

NEPHRINURIA SEBAGAI FAKTOR RISIKO NEFROPATI DIABETIK PADA PASIEN DIABETES MELITUS TIPE 2

KARYA AKHIR

Diajukan guna melengkapi tugas-tugas
dan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam
memperoleh Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam



Oleh :
dr. Nicholas Benedictus
NIM 108070200111001

Pembimbing:
dr. Nur Samsu, Sp.PD-KGH
dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD

Program Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS) I Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar
Malang
2014

PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA AKHIR

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah karya akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata didalam naskah karya akhir ini dapat dibuktikan terdapat unsur plagiasi, saya bersedia karya akhir ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (dokter spesialis penyakit dalam) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, Juni 2014

Mahasiswa,

Nama : Nicholas Benedictus

NIM : 108070200111001

PS : Ilmu Kedokteran

Prog. : PPDS-I

Fak. : Kedokteran UB

KATAPENGANTAR

Puji dan syukur senantiasa kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga Karya Akhir dengan judul "**Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Nefropati Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2**" ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada semua pihak yang telah berjasa dalam menyelesaikan penelitian ini, terutama kepada:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
2. Direktur RSUD dr. Saiful Anwar Malang.
3. dr. Budi Darmawan Machsoos, SpPD-KHOM, FINASIM selaku Kepala SMF dan Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam.
4. dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD, FINASIM selaku Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam.
5. dr. Djoko Heri Hermanto, SpPD-KHOM selaku Sekretaris Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam.
6. dr. Nur Samsu, SpPD-KGH dan dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD, FINASIM selaku pembimbing penelitian yang senantiasa mengarahkan, memotivasi, dan memberikan jalan keluar untuk segala permasalahan yang muncul dalam proses pengerjaan penelitian ini.
7. Prof. Dr. dr. Handono Kalim, SpPD-KR, Prof. Dr. dr. Harijono Achmad, SpPD-KGEH, Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, SpPD, SpJP(K), Prof. dr. Djoko Wahono Soeatmadji, SpPD-KEMD, Prof. Dr. dr. Achmad Rudijanto, SpPD-KEMD, dr. Gatoet Ismanoe, SpPD-KPTI, dr. Atma Gunawan, SpPD-KGH, dr. BP. Putra Suryana, SpPD-KR, dr. Niniek Budiarti, SpPD-KPTI, dr. Bogi Pratomo, SpPD-KGEH, dr. Supriono, SpPD-KGEH, dr. C. Singgih Wahono, SpPD-KR, dr. Didi

Candradikusuma, SpPD, dr. Shinta Oktya Wardhani, SpPD, dr. Sri Sunarti, SpPD, dr. Laksmi Sasiarini, SpPD, dr. Gadis Nurlaila, SpPD, dr. Syifa Mustika, SpPD, dr. Rulli Rosandi, SpPD atas masukan, dukungan, dan sarannya dalam penelitian ini.

8. Pegawai di lingkungan SMF IPD RSSA yang telah membantu semua proses dalam penulisan karya akhir ini, khususnya Mbak Sari, MbakAini, Bu Ketut, Mbak Winda, Mbak Eme, dan Mbak Heni, penulis mengucapkan penghargaan dan terimakasih sebesar-besarnya.
9. Seluruh responden yang bersedia mengikuti penelitian ini demi membantu peneliti dan tim, penghargaan yang setinggi-tingginya dan terimakasih yang sebesar-besarnya peneliti sampaikan atas kesediaan dan kerjasamanya.
10. Ayahanda tercinta A. Sianipar (Alm.) dan dr. J. Bambang Soemantri, Sp.THT-KL, Ibunda tercinta N. L. Tampubolon, S.Kep, NS, MM dan dr. A. M. Sri Wiryaningtyas, Sp.Rad, istriku tercinta dr. L. Divina Respati, serta saudara-saudara penulis Yules Orlando Sianipar, SS, M.Humdan I. Anggoro Sulaksono, ST, MM yang selalu ada, memberikan doa, dukungan secara lahir dan batin, serta semangat yang luar biasa.
11. Teman-teman seperjuangan dr. Dyah, dr. Marthin, dr. Meci, dr. Rifai, dr. Rusyda, dan seluruh teman-teman PPDS IPD, serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang senantiasa mendukung dan bekerjasama selama masa pendidikan.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu kedokteran dan kepentingan masyarakat. Penulis menyadari bahwa penelitian ini jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya dan berharap selanjutnya dilakukan penelitian dengan metode yang lebih baik.

Malang, Juni 2014

Nicholas Benedictus

Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Nefropati Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2

Nicholas Benedictus* NurSamsu** Putu Moda Arsana***

Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
RSUD dr. Saiful Anwar, Malang – Indonesia

Abstrak

LatarBelakang: Mikroalbuminuria bukanlah suatu prediktor yang baik terjadinya nefropati diabetik dan progresifitas menjadi makroalbuminuria pada DM tipe 2. Nephrin bersifat krusial untuk mempertahankan integritas dari barier filtrasi yang intak. Nephrinuria diduga sebagai faktor risiko perburukan albuminuria. Sehingga tindakan pencegahan ataupun terapi yang agresif dapat ditujukan kepada sekelompok pasien DM tipe 2 dengan nephrinuria.

Tujuan: Untuk menentukan apakah nephrinuria merupakan faktor risiko nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2.

Desain: Penelitian kohort retrospektif.

Pasien: 34 pasien diabetes melitus tipe 2 berusia diatas 40 tahun dengan kadar serum kreatinin < 1,5 mg/dL.

Metode: Pasien dibagi kedalam kelompok dengan nephrinuria (n=23) dan tanpa nephrinuria (n=11). Analisis regresi linear dikerjakan untuk meneliti hubungan antara nephrinuria dengan peningkatan *urine albumin to creatinine ratio* (ACR_{urin}). Analisis regresilogistik dikerjakan untuk meneliti hubungan antara nephrinuria dengan peningkatan kelas ACR urin.

Hasil: Risiko Relatif dari peningkatan ACR urin adalah 0,96, dengan Interval Kepercayaan 95% berkisar dari 0,55 sampai 1,67. Dan, Risiko Relatif dari peningkatan kelas ACR urin adalah 2,87, dengan Interval Kepercayaan 95% berkisar dari 0,39 sampai 21,02.

Kesimpulan: Dari hasil penelitian kami menunjukkan bahwa nephrinuria tidak terbukti sebagai faktor risiko nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2.

Kata Kunci: nephrinuria, ACR urin, nefropati diabetik

Nephrinuria as a Risk Factor for Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus Patients

Nicholas Benedictus* NurSamsu** PutuModaArsana***

Departement of Internal Medicine, Medical Faculty of Brawijaya University
dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang – Indonesia

Abstract

Background: Microalbuminuria has not been a good predictor for the occurrence of diabetic nephropathy and progression into macroalbuminuria in type 2 diabetes. Nephrin has been known to be crucial to maintain the integrity of the intact filtration barrier. Nephrinuria has been expected to be a risk factor for the worsening of albuminuria. So that preventive measures or aggressive treatment could be addressed to a group of type 2 diabetes mellitus patients with nephrinuria.

Objective: To determine whether nephrinuria is a risk factor for diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus patients.

Design: Retrospective cohort study.

Patients: A total of 34 type 2 diabetes mellitus patients aged over 40 years old with creatinine serum level $< 1,5$ mg/dL.

Methods: Patients were divided into those with nephrinuria ($n=23$) and without nephrinuria ($n=11$). Linear regression analyses were performed to examine the associations between nephrinuria and the increase of urine albumin to creatinine ratio (urine ACR). Logistic regression analyses were performed to examine the associations between nephrinuria and the increase of urine ACR classes.

Results: The relative risk for the increase of urine ACR was 0.96, with a 95% confidence interval (CI) ranging from 0.55 to 1.67. And, the relative risk for the increase of urine ACR classes was 2.87, with a 95% confidence interval (CI) ranging from 0.39 to 21.02.

Conclusions: The results of our study indicated that nephrinuria had not been proven as a risk factor for diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus patients.

Keywords: nephrinuria, urine ACR, diabetic nephropathy

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Orisinalitas Karya Akhir.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.4.1 Tujuan Umum.....	3
1.4.2 Tujuan Khusus.....	3
1.5 Manfaat.....	3
1.5.1 Manfaat Akademik.....	3
1.5.2 Manfaat Pelayanan.....	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Nefropati Diabetik.....	4

2.1.1 Nefropati Diabetik: Perubahan-PerubahanSelularPatofisiologis.....	5
2.1.2 Nefropati Diabetik: Efek dari Gangguan Metabolik dan Hemodinamik..	8
2.2 Nephtrin.....	12
2.3 Nephtrin pada Nefropati Diabetik.....	17
 BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	
3.1 Kerangka Teori.....	21
3.2 Kerangka Konsep.....	22
 BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
4.3 Populasi Penelitian.....	23
4.4 Persetujuan Penelitian.....	23
4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel Penelitian Pendahuluan.....	24
4.5.1 Kriteria Inklusi.....	24
4.5.2 Kriteria Eksklusi.....	24
4.6 Besar Sampel.....	24
4.7 Identifikasi Variabel.....	24
4.8 Definisi Operasional.....	25
4.9 Metode Pemeriksaan Nephtrin Urin.....	25
4.10Analisa Statistik.....	26
4.11Kerangka Kerja.....	28
4.12Jadwal Penelitian.....	29
4.13Perkiraan Biaya.....	29
 BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1 Karakteristik Dasar Sampel Penelitian.....	30

5.2 Hubungan Sebab Akibat antara Kenaikan ACR dengan Nephrinuria.....	31
5.3 Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Kenaikan ACR.....	34
5.4 Hubungan Sebab Akibat antara Kenaikan Kelas ACR dengan Nephrinuria...	35
5.5 Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Kenaikan Kelas ACR.....	35
 BAB VI PEMBAHASAN.....	 37
 BAB VII PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	41
7.2 Keterbatasan Penelitian.....	41
7.3 Saran.....	41
 DAFTAR PUSTAKA.....	 42

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 4.12.1	Jadwal Penelitian.....	29
Tabel 4.13.1	Perkiraan Biaya.....	29
Tabel 5.1.1	Karakteristik Dasar Subjek Penelitian.....	30
Tabel 5.1.2	Karakteristik Dasar Subjek Penelitian antara Data Awal dan Data Akhir..	31
Tabel 5.1.3	Karakteristik Klinis Subjek Penelitian yang Dibagi Kedalam 2 Kelompok Berdasarkan Ada-Tidaknya Nephurinuria pada Data Awal.....	31
Tabel 5.1.4	Karakteristik Laboratoris Subjek Penelitian yang Dibagi Kedalam 2 Kelompok Berdasarkan Ada-Tidaknya Nephurinuria pada Data Awal.....	31

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1.1	Podosit yang Menerima Pensinyalan dari Insulin.....	4
Gambar 2.1.1.1	Struktur Glomerulus dan Dinding Kapilernya.....	5
Gambar 2.1.1.2	Lumen Kapiler Glomerulus Dikelilingi oleh Endotelium Berpori-Pori, GBM, dan Foot Process Podosit.....	6
Gambar 2.1.1.3	Foot Process Podosit SalingTerhubung Sepanjang Celah Filtrasi oleh Slit Diaphragm (SD).....	7
Gambar 2.1.2.1	Skema yang Menggambarkan Jalur-Jalur Utama yang Terlibat dalam Patofisiologi Nefropati Diabetik.....	9
Gambar 2.2.1	Nephrin di Area Slit Diafragma.....	16
Gambar 5.2.1	Grafik Regresi Linear antara Kenaikan ACR dengan Nephrinuria.....	33
Gambar 5.3.1	Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Kenaikan ACR.....	34
Gambar 5.5.1	Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Kenaikan Kelas ACR.....	36
Gambar 6.1	Distribusi 301 Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 yang Dibagi Berdasarkan GFR (yaitu, <atau ≥ 60 ml/menit/1,73m ²) dan ACR (yaitu, Normo- (<20 mg/menit), Mikro- (20-200 mg/menit), atau Makroalbuminuria (>200 mg/menit)).....	39
Gambar 6.2	Evolusi Nefropati Diabetik.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1** Keterangan Laik Etik (*Ethical Clearance*)
- Lampiran 2** Informasi Penelitian
- Lampiran 3** Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian (*Informed Consent*)
- Lampiran 4** Analisa Data Statistik

DAFTAR SINGKATAN

ACE	: Angiotensin-Converting Enzyme
ACR	: Albumin to Creatinine Ratio
AGE	: Advanced Glycation End products
Akt	: Ak strain transforming
ARB	: Angiotensin Receptor Blocker
BAD	: Bcl-2 Associated Death protein
Bcl-2	: B-cell lymphoma-leukemia gene 2
CNF	: Congenital Nephrotic syndrome of the Finnish type
DAG	: diasilgliserol
DM	: Diabetes Melitus
eGFR	: estimated Glomerular Filtration Rate
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GBM	: Glomerular Basement Membrane
GFR	: Glomerular Filtration Rate
GLUT	: Glucose Transporter
HbA _{1c}	: Glycated Haemoglobine A _{1c}
HDL	: High-Density Lipoprotein
IMT	: Indeks Massa Tubuh
JNK/SAPK	: Jun N-terminal Kinases/Stress-Activated Protein Kinases
kDa	: kiloDaltons
LDL	: Low-Density Lipoprotein
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinases
mRNA	: messenger Ribonucleic Acid
mTOR	: mammalian Target Of Rapamycin
mTORC	: mTOR Complex
MW	: Molecular Weight

NAD	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NF- κ B	: Nuclear Factor-Kappa B
nm	: nanometer
NO	: Nitric Oxide
NOD	: Non-Obese Diabetic
NPHS1	: Nephrosis 1
PBS	: Phosphat Buffered Saline
PI3K	: Phosphoinositide 3-OH Kinase
PKC	: Protein Kinase C
PPAR	: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
RAAS	: Renin-Angiotensin-Aldosterone System
RAGE	: Receptor of Advanced Glycation End products
ROS	: Reactive Oxygen Species
SD	: Slit Diaphragm
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
Sirt	: Sirtuins/Silent mating type information regulation 2 homolog
STZ	: Streptozotocin
TGF- β 1	: Transforming Growth Factor- β 1
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Komplikasi kronis dari Diabetes Melitus (DM) dapat berupa retinopati, nefropati, dan neuropati. Nefropati diabetic adalah nefropati yang umumnya menyertai tahap-tahap lanjut dari DM, yang didahului oleh hiperfiltrasi, hipertrofi ginjal, mikroalbuminuria, dan hipertensi, kemudian proteinuria berkembang, dan disertai tanda-tanda lain dari penurunan fungsi ginjal sampai menjadi gagal ginjal tahap akhir.¹ Mikroalbuminuria atau makroalbuminuria dapat ditemukan pada saat diagnose DM tipe 2 baru ditegakkan. Mikroalbuminuria bukanlah suatu prediktor yang baik terjadinya nefropati diabetic dan progresifitas menjadi makroalbuminuria pada DM tipe 2, sebab albuminuria pada DM tipe 2 dapat diakibatkan oleh faktor-faktor yang lain, seperti hipertensi, gagal jantung kongestif, penyakit pada prostat, atau infeksi.² Diantara seluruh pasien yang membutuhkan dialisis, 40%-nya disebabkan oleh nefropati diabetic dengan angka mortalitas 15% lebih tinggi dalam 5 tahun pertama dan 22% lebih tinggi pada tahun pertama dibandingkan dengan yang non-diabetes secara kohort. Diagnosis dini yang kemudian diikuti dengan terapi yang agresif memainkan peranan penting dalam menunda progresifitas penyakit ginjal.³

Podosit (sel-sel epitel visceral khusus) penting untuk mempertahankan membran filtrasi glomerulus agar tidak terjadi kebocoran protein.⁴ Kejadian podositopenia dan podosituria pada nefropati diabetic telah terbukti pada beberapa penelitian.⁵ Nephrin, suatu protein yang terdapat di dalam sel-sel

tersebut, bersifat krusial untuk mempertahankan integritas dari barier filtrasi yang intak.⁶

Nakamura dkk. Menemukan podosituria hanya pada pasien-pasien DM dengan mikro- dan makroalbuminuria, tidak pada pasien DM dengan normoalbuminuria, gagal ginjal kronis, dan kontrol sehat.⁷ Podosituria berhubungan dengan akselerasi dari cedera struktur glomerulus pada pasien-pasien yang mengalami perkembangan mikroalbuminuria menuju nefropati klinis.⁸ Sedangkan Patari dkk. Menyimpulkan bahwa membran filtrasi glomerulus dan khususnya jembatan penghubung antar podosit dapat terpengaruh oleh DM dimana pada penelitiannya ditemukan nephrin didalam urin sepertiga pasien-pasien DM tipe 1 walaupun belum terjadi mikroalbuminuria, dimana pada subjek kontrol tidak ada yang mengalami *nephrinuria*.⁹ Hanya terdapat sedikit informasi mengenai penelitian nephrin didalam urin pada pasien DM tipe 2.⁴

Berdasarkan uraian diatas, *nephrinuria* diduga sebagai faktor risiko nefropati diabetic atau perburukan albuminuria. Sehingga tindakan pencegahan ataupun terapi yang agresif dapat ditujukan kepada sekelompok pasien DM tipe 2 dengan *nephrinuria*. Tetapi penelitian dengan metoda *cross-sectional* oleh Puspa B, Samsu N, dan Soeatmadji DW menyimpulkan bahwa tidak didapatkan hubungan antara *nephrinuria* dengan derajat albuminuria pada pasien DM tipe 2.¹⁰ Oleh karena itu, kami hendak melanjutkan penelitian tersebut dengan metode kohort retrospektif dengan menggunakan sampel yang sama dengan interval kurang lebih 3 tahun.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah *nephrinuria* merupakan faktor risiko nefropati diabetic pada pasien DM tipe 2?

1.3 Hipotesis

Nephrinuria merupakan faktor risiko nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menentukan apakah *nephrinuria* merupakan faktor risiko nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2.

1.4.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *nephrinuria* terhadap albuminuria pada pasien DM tipe 2.

1.5 Manfaat

1.5.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman terhadap pengaruh *nephrinuria* terhadap albuminuria pada pasien DM tipe 2.

1.5.2 Manfaat Pelayanan

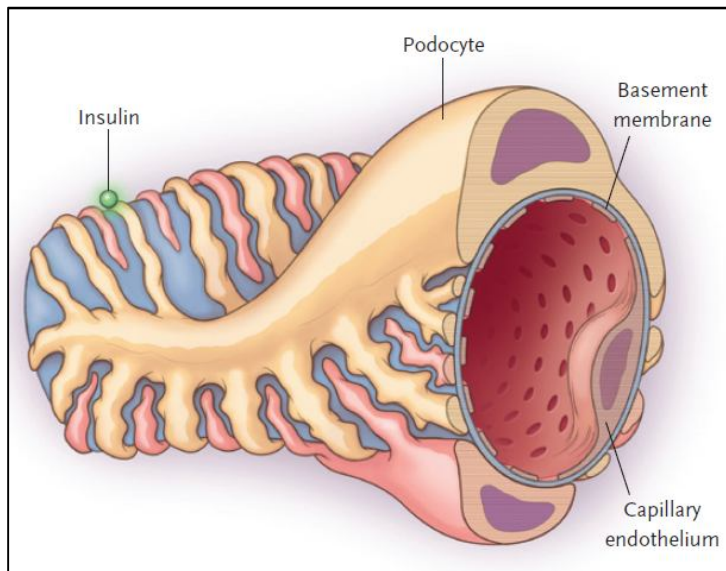
Diharapkan dari penelitian ini dapat terjadi perbaikan / pengembangan / penyempurnaan protokol / penatalaksanaan pasien DM tipe 2.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nefropati Diabetik

Nefropati diabetik adalah suatu penyakit progresif kronis yang mengenai 20-40% pasien diabetes melitus. Penelitian-penelitian klinis telah membuktikan bahwa kendali ketat dari hiperglikemia dan hipertensi dapat memperlambat progresifitas dari nefropati diabetik dan bahwa resistensi insulin berkorelasi dengan onset dan keparahan albuminuria. Korelasi ini juga telah ditemukan pada populasi normotensi yang tidak menderita diabetes, menunjukkan bahwa resistensi insulin dapat menyebabkan albuminuria.¹¹ Welsh dan koleganya meneliti peran pensinyalan insulin pada ginjal dan melaporkan bahwa defisiensi reseptor insulin yang spesifik pada podosit menyebabkan suatu lesi glomerulus yang menyerupai nefropati diabetik, walaupun tanpa adanya hiperglikemia.¹²



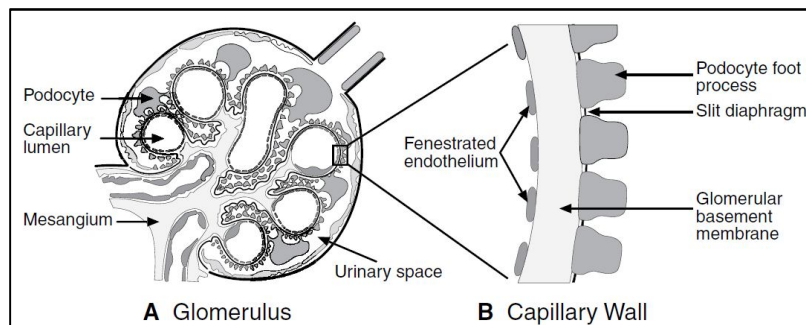
Gambar 2.1.1 Podosit yang Menerima Pensinyalan dari Insulin.¹¹

Pada diabetes, gangguan metabolik (hiperglikemia) dan hemodinamik (hipertensi) adalah dua serangan utama yang, dimodulasi jalur-jalur selular yang berbeda-beda, menyebabkan penurunan fungsi ginjal.¹³

2.1.1 Nefropati Diabetik: Perubahan-Perubahan Selular Patofisiologis

Salah satu tanda paling dini dari nefropati diabetik adalah suatu perubahan karakteristik permeabilitas selektif terhadap protein dari sekat filtrasi glomerulus yang berupa peningkatan jumlah protein didalam urin, yang disebut sebagai “albuminuria”. Pada stadium awal penyakit, albuminuria biasanya secara kuantitatif kecil dan intermiten, sedangkan, setelah penyakit menjadi progresif, akan menjadi lebih persisten dan dalam jumlah besar sampai mencapai tahapan “proteinuria klinis” telah diketahui sebagai suatu prediktor penting untuk progresifitas penyakit ginjal dan penyakit ginjal tahap akhir.¹⁴

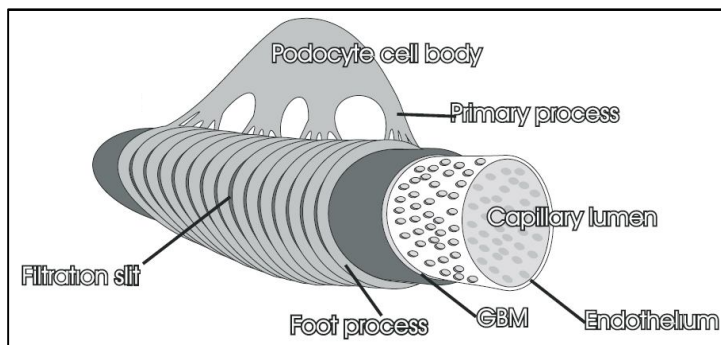
Pada diabetes, albuminuria terjadi akibat defek dari sekat filtrasi glomerulus. Glomerulus adalah suatu struktur kompleks yang bergantung, untuk fungsi fisiologisnya, pada interaksi kerjasama antara beberapa tipe sel (endotelial, sel mesangial, dan podosit) dengan membrana basalis glomerulus/*Glomerular Basement Membrane* (GBM). Diabetes secara signifikan mengenai seluruh sel-sel glomerulus.¹⁵



Gambar 2.1.1.1 Struktur Glomerulus dan Dinding Kapilernya.¹⁶

Endotelium glomerulus, bagian terdalam dari sekat filtrasi glomerulus, terdiri dari sel-sel endotelial berpori-pori yang memisahkan GBM dari lumen

kapiler (Gambar 2.1.1.2).¹⁶ Sel-sel endotelial glomerulus memiliki peran penting dalam koagulasi, inflamasi, dan proses imun didalam kelompok kapiler.¹⁷ Pori-pori endotelial yang berbentuk bulat sampai oval berdiameter 50-100 nm sehingga kebanyakan makromolekul (seperti albumin yang berdiameter beberapa nanometer) dapat bebas melewati pori-pori, dan mencapai GBM tanpa resistensi yang bermakna.¹⁸ Sel endotelial glomerulus akan membengkak dan strukturnya menjadi imatur akibat hilangnya glikokaliks endotelial. Pada penelitian-penelitian sel-sel endotelial glomerulus in vitro, paparan glukosa yang tinggi pada sel-sel setara dengan kerusakan pada glikokaliks, dengan peningkatan sekunder permeabilitas albumin melalui sel endotelaial glomerulus satu lapis; serupa, pada pasien diabetes tipe 1, berkurangnya ketebalan lapisan glikokaliks sel endotelial berkorelasi dengan keparahan albuminuria.¹⁹

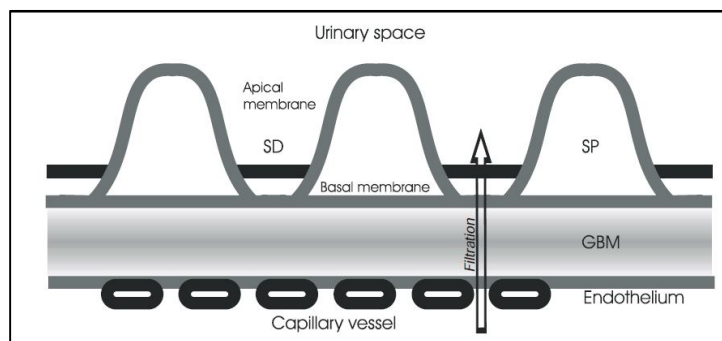


Gambar 2.1.1.2 Lumen Kapiler Glomerulus Dikelilingi oleh Endotelium Berpori-Pori, GBM, dan foot process Podosit.²⁰

Lapisan kedua dari sekat filtrasi adalah GBM yang bermuatan listrik negatif (Gambar 2.1.1.1 B), yang berfungsi mencegah aliran molekul bermuatan listrik kedalam urin. Selain itu, GBM juga memiliki sekat terhadap partikel-partikel yang berukuran sama atau lebih besar dari albumin (MW 68 kDa).²⁰

Sekat terakhir adalah lapisan epitelial yang terdiri dari sel-sel epitelial viseral, yang dinamakan podosit. Podosit memiliki struktur yang sangat spesial dengan *major* (primer) *process* dan *foot* (sekunder) *process*.²⁰ *Foot process*

menstabilkan bentuk glomerulus dan juga mempertahankan permukaan filtrasi podosit dengan suatu struktur khusus, *slit diaphragm* (SD), yang menghubungkan *foot process* yang berdekatan. Podosit juga mengatur sintesis protein matriks ekstraselular dari GBM.²¹ Pada diabetes, fungsi dan struktur podosit terganggu sehingga menyebabkan deposisi berlebihan dari matriks ekstraselular (penebalan GBM), perubahan arsitektur podosit (fusi *foot process*) dan terpisah dari GBM, semua perubahan tersebut ditemukan baik pada pasien diabetes tipe 1 maupun tipe 2.²²



Gambar 2.1.1.3 *Foot Process* Podosit Saling Terhubung Sepanjang Celah Filtrasi oleh *Slit Diaphragm* (SD).²⁰

Jaringan mesangium, diantara kapiler-kapiler glomerulus, terdiri dari sel-sel mesangium dan suatu matriks interselular. Sel-sel mesangium jumlahnya sangat banyak di filamen mosin dan aktin dan memiliki kemampuan fagositik.²⁰ Sel-sel mesangium juga berkontribusi pada akumulasi progresif matriks ekstraselular akibat diabetes yang menyebabkan glomerulosklerosis progresif.²³

Kronologis dari lesi glomerulus akibat diabetes masih belum dipahami sepenuhnya dan hanya terdapat sedikit pemahaman mengenai interaksi dan peran dari tipe sel yang berbeda-beda dalam proses kerusakan glomerulus.²⁴ Pada berbagai penelitian dengan menggunakan hewan coba diabetes, hilangnya podosit akan diikuti oleh usaha podosit yang tersisa untuk mencakup area permukaan GBM yang lebih besar; hal ini akan diikuti oleh pelebaran *foot*

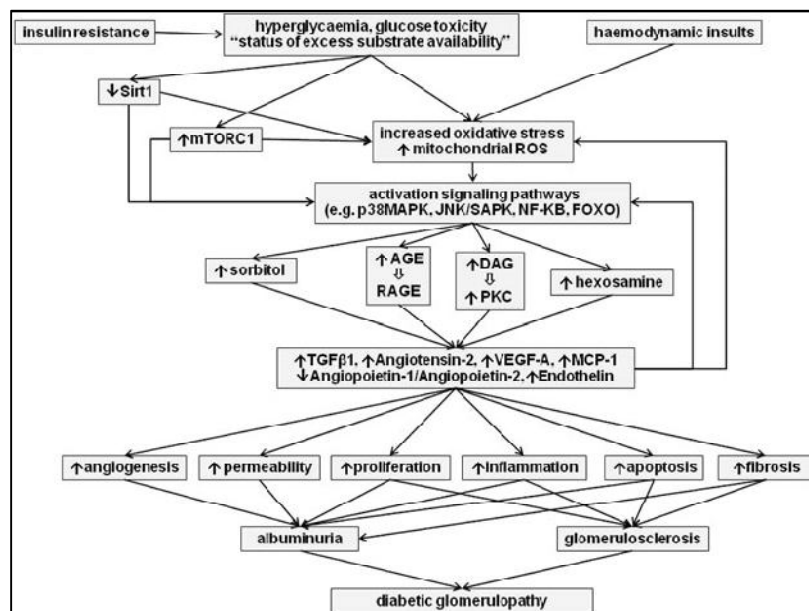
process dari podosit, proteinuria, dan pada tahap lanjut, glomerulosklerosis progresif. Secara spesifik, telah diamati perubahan glomerulus awal pada penelitian hewan coba diabetes akan ditandai oleh cidera podosit tanpa bukti adanya ekspansi mesangial.²⁵ Pada manusia, sulit untuk menentukan tahapan perubahan morfologis yang terjadi pada fase awal glomerulopati diabetik tetapi hilangnya podosit dan terbentuknya area GBM yang kosong dapat merepresentasi titik awal cidera glomerulus.²⁶

2.1.2 Nefropati Diabetik: Efek dari Gangguan Metabolik dan Hemodinamik

Gangguan metabolik dan hemodinamik, terutama kombinasi keduanya, berperan penting dalam patofisiologi nefropati diabetik (Gambar 2.1.2.1). Mekanisme kerusakan yang dimediasi oleh hiperglikemia pada vasoregulasi kapiler adalah kompleks. Aktivasi jaringan lokal Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS) yang dimediasi oleh hiperglikemia menyebabkan dilepaskannya Angiotensin-2, memicu peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan ekspresi Transforming Growth Factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), keduanya berimplikasi pada vasokonstriksi baik arteriol glomerulus afferen maupun efferen. Tingginya sensitivitas arteriol glomerulus efferen (dibanding afferen) terhadap aksi vasokonstriktif dari Angiotensin-2 berkontribusi pada ketidakseimbangan tonus arteriolar yang menghasilkan tingginya tekanan kapiler glomerulus, dan menyebabkan elongasi mekanis sel-sel glomerulus dan aktivasi mekanisme-mekanisme selular diatas sehingga terjadilah kerusakan glomerulus.²⁷

Peningkatan tekanan kapiler glomerulus yang diikuti elongasi sel-sel mesangium menghasilkan efek yang dimediasi oleh autokrin/parakrin TGF- $\beta 1$ dengan up-regulasi transporter glukosa fasilitatif GLUT-1 yang kemudian meningkatkan transport glukosa antara membran sel dengan metabolisme

glukosa dan deposisi matriks ekstraselular yang berlebihan. Peningkatan ekspresi GLUT-1 kortikal telah dibuktikan pada penelitian hewan coba diabetes.²³



Gambar 2.1.2.1 Skema yang Menggambarkan Jalur-Jalur Utama yang Terlibat dalam Patofisiologi Nefropati Diabetik.²⁴

Peningkatan transport dan metabolisme glukosa selular serta gangguan hemodinamik yang bersamaan dengannya (peningkatan tekanan kapiler glomerulus) menyebabkan peningkatan produksi ROS, yang mengakibatkan aktivasi suatu seri *stress-activated signalling pathways*, seperti nuclear factor-kappaB (NF-κB), p38 *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), dan Jun N-terminal kinases/stress-activated protein kinases (JNK/SAPK), yang merupakan awal dari jalur-jalur metabolik intraselular yang berbeda-beda, seperti *polyol* dan *hexosamine pathway*, peningkatan produksi produk-produk *advanced glycation end* (AGEs), peningkatan kadar diasilgliserol (DAG) dan aktivasi Protein Kinase C (PKC). Peningkatan produksi ROS, yang dimediasi tingginya kadar glukosa/peregangan mekanik, merupakan pusat patogenesis nefropati diabetik dan peningkatan sekunder dari Angiotensin-2, peningkatan aktivasi PKC, dan

ekspresi TGF- β 1 telah dikenal sebagai stimulan-stimulan penting stres pro-oksidatif.¹³

Peningkatan masuknya glukosa kedalam sel-sel memicu konversi glukosa menjadi sorbitol oleh aldose reduktase, dimana akumulasi sorbitol telah diamati pada sel-sel glomerulus diabetes. Akumulasi selular sorbitol menentukan perubahan-perubahan osmolaritas dan biokimia selular menyebabkan peningkatan stres oksidatif dan glikasi protein non-enzimatik. Peran *polyol pathway* pada nefropati diabetik telah diteliti dengan menggunakan inhibitor aldose reduktase yang spesifik tetapi hasilnya sampai saat ini belum memberikan jawaban yang definitif.²⁸

Perubahan yang terus-menerus melalui *hexosamine pathway* berimplikasi pada nefropati diabetik. Pada kondisi fisiologis normal, sejumlah kecil (1–3%) glukosa yang ditranspor kedalam sel dimetabolisme melalui hexosamine pathway. Pada sel-sel mesangium, perubahan terus-menerus dari glukosa melalui *hexosamine pathway* berimplikasi pada aktivasi p38MAPK, peningkatan ekspresi TGF- β 1, dan aktivasi NF- κ B.²⁹

AGE mewakili sekelompok protein, lipid, dan asam nukleat, bersama dengan mekanisme-mekanisme melalui reseptornya (reseptor dari AGE-RAGE) menentukan perubahan dari ekspresi gen dan aktivasi protein-protein pensinyalan selular yang mengakibatkan peningkatan stres oksidatif, inflamasi, dan pelepasan sitokin. Blokade RAGE pada penelitian hewan coba diabetes memperbaiki kerusakan ginjal yang dimediasi diabetes secara fungsional (albuminuria) dan struktural (glomerulosklerosis). Pada biopsi ginjal dari pasien-pasien diabetes, akumulasi AGE terutama ditemukan pada membrana basalis

ginjal, dan akumulasinya bersamaan dengan up-regulasi dari RAGE pada podosit.³⁰

Penyebab penting lainnya dari nefropati diabetik adalah PKC; dari seluruh isoform PKC, PKC- α , PKC- β 1/ β 2, dan PKC- ϵ terlibat dalam patofisiologi komplikasi ginjal diabetik pada penelitian hewan coba diabetes. Hewan-hewan dengan delesi PKC- β dan PKC- α menghasilkan perbaikan lesi akibat diabetes akibat berkurangnya ekspresi sitokin profibrotik TGF- β 1, mengakibatkan berkurangnya sintesis matriks ekstraselular, berkurangnya stres oksidatif, dan terpeliharanya ekspresi nephrin dan integritas dari sekat filtrasi glomerulus. Sebaliknya, ekspresi dan aktivitas TGF- β 1 mengalami up-regulasi pada tikus-tikus dengan delesi PKC- ϵ , mengisyaratkan bahwa aktivasi PKC- ϵ pada diabetes menghasilkan proteksi terhadap ginjal dibanding sebagai mediator cedera ginjal.³¹

Berlebihnya ketersediaan substrat seperti tingginya kadar glukosa yang bersirkulasi (toksisitas glukosa) akan memicu proses selular yang menghubungkan ketersediaan nutrisi dengan respon selular; jalur-jalur yang paling sering diteliti adalah Sirtuins (Sirt) dan *mammalian target of rapamycin* (mTOR). Predisposisi untuk terjadinya komplikasi mikrovaskular ginjal berhubungan dengan resistensi insulin bersamaan dengan peningkatan kadar glukosa yang bersirkulasi dan berlebihnya ketersediaan substrat, suatu kondisi yang ditandai oleh penurunan ekspresi Sirt1 dan peningkatan aktivasi jalur mTOR.³²

Sirt terdapat dimana-mana dan mengekspresikan *NAD1-dependent deacetylases* dan mendeasetilasi berbagai faktor transkripsi (PPAR γ , PPAR γ coactivator-1 α , NF- κ B, dan *forkheadbox class O proteins*), dimana semuanya berhubungan dengan disfungsi vaskular pada diabetes. In vitro, Sirt1 bersifat

protektif terhadap kerusakan sel endotelial yang diinduksi oleh glukosa tinggi. Sirt1 mengalami *down-regulation* pada ginjal tikus diabetes dan proteksi terhadap progresifitas penyakit ginjal didapat setelah penggunaan agonis Sirt1. Serupa dengan hal tersebut, restriksi diet, untuk melawan berlebihnya ketersediaan nutrisi untuk sel-sel pada diabetes (toksisitas glukosa), berhubungan dengan up-regulasi Sirt1 dan perbaikan nefropati diabetik.³³

mTOR membentuk dua kompleks fungsional, yang dinamakan mTOR kompleks-1 (mTORC1) dan mTORC2. mTOR mengatur berbagai proses seluler termasuk pertumbuhan sel, proliferasi, inflamasi, dan autofagi sebagai respon berlebihnya ketersediaan nutrisi seperti glukosa dan faktor-faktor pertumbuhan. Aktivasi mTOR yang spesifik podosit terbukti menghasilkan fenotipe seperti nefropati diabetik, sedangkan reduksi genetik dari aktivitas mTORC1 secara bermakna mencegah penyakit ginjal pada penelitian hewan coba diabetes.³⁴

2.2 Nephrin

Sekat filtrasi glomerulus dipengaruhi oleh sejumlah penyakit ginjal primer dan sekunder yang menghasilkan kebocoran albumin dan protein plasma yang lebih besar ke dalam urin dan edema generalisata dan sindroma nefrotik sebagai konsekuensi akhirnya. *Congenital nephrotic syndrome of the Finnish type* (CNF) adalah suatu kelainan autosomal resesif, yang ditandai oleh proteinuria masif intra-uterine dan nefrosis setelah lahir. Sindroma ini ditemukan pada 1:10.000 sampai 1:8.000 bayi lahir di Finlandia dan menjadi suatu model penyakit proteinuria yang spesifik podosit. Tanda-tanda klinisnya yang khas meliputi hipoproteinemia berat akibat kehilangan masif dari protein dalam sirkulasi melalui urin yang kemungkinan besar akibat defek slit filtrasi. Tanda-tanda lainnya meliputi edema, hiperlipidemia, dan kerentanan terjadinya komplikasi

tromboemboli dan infeksi bakterial. Pasiennya akan mengalami proteinuria masif sejak didalam uterus, yang berhubungan dengan pembesaran plasenta dan tingginya kadar alfa-fetoprotein pada cairan amnion dan serum ibunya. Temuan-temuan patologis yang khas adalah fusi dari podocyte *foot process* (*foot process effacement*), dilatasi tubulus proksimalis, hiperselularitas mesangium, dan penebalan GBM.³⁵

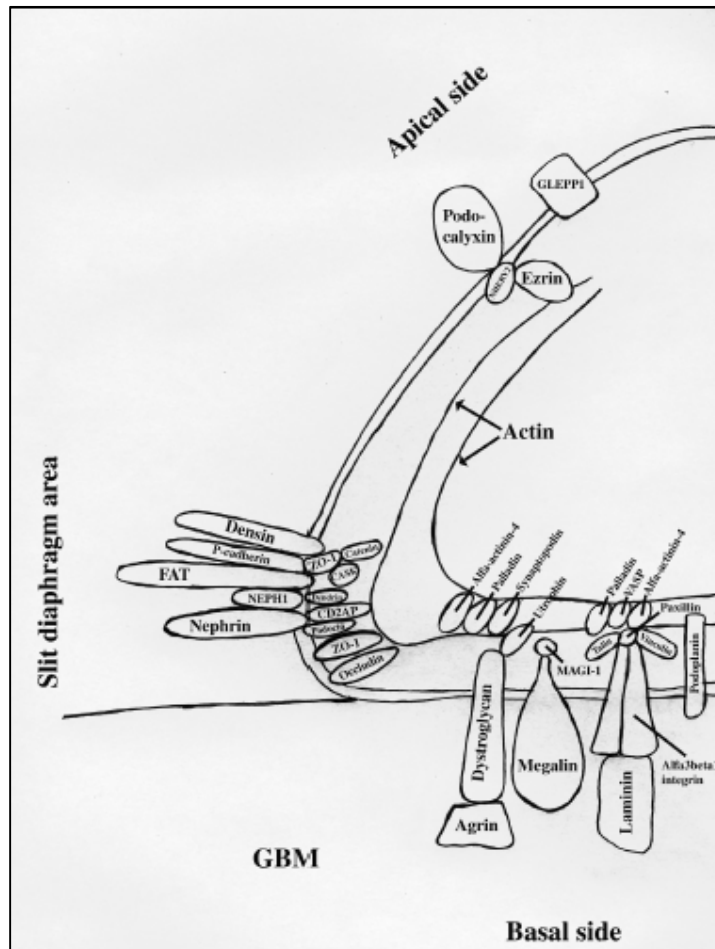
Dengan melakukan kloning, Kestila, et al. berhasil mengidentifikasi gen nephrin (NPHS1) yang bermutasi pada CNF. Gen ini berlokasi di lengan panjang dari kromosom 19 pada lokus 13.1 dan memiliki 29 ekson. Produk dari gen tersebut, yaitu nephrin, adalah protein transmembran residu 1241 yang merupakan super famili dari imunoglobulin (Gambar 2.2.1). Dua mutasi yang dialami kebanyakan pasien Finlandia dan menyebabkan sintesis bentuk nephrin yang terpotong; delesi ekson 2 (Finn mayor) dan mutasi ekson 26 (Finn minor). Pada beberapa negara lain, mutasi pada gen nephrin menyebabkan kasus-kasus sporadis yang menyerupai CNF. Walaupun CNF adalah suatu kelainan resesif, karier fetus dari mutasi nephrin menunjukkan fusi dari podosit *foot process*, proteinuria sementara, dan tes alfa-protein yang positif palsu. Kemudian, satu alel yang fungsional saja sudah cukup sehingga karier memiliki fungsi ginjal yang normal. Model tikus dengan defisiensi nephrin menguatkan peran penting dari nephrin dalam fungsi filtrasi glomerulus sebab mengekspresikan proteinuria berat. Menariknya, sepertiga *foot process* berfusi yang dibuktikan dengan foto mikro dengan mikroskop elektron dan didapatkan penurunan lebih dari 60% kadar mRNA spesifik nephrin didalam glomerulus tikus defisiensi nephrin heterozigous asimtomatik.³⁶

Selain di ginjal, nephrin juga diekspresikan di sel beta pankreas, otak tikus selama perkembangan otak, sel Sertoli testis tikus, dan limpa tikus, tetapi nephrin tidak banyak berperan diluar ginjal. Pada ginjal, nephrin secara spesifik terletak di slit diaphragma dan berkontribusi pada penggantungan protein pada slit filtrasi seperti yang terlihat pada tomografi elektron. Pecahan nephrin (nephrin α) telah ditemukan pada tingkat mRNA baik pada ginjal tikus maupun manusia. Nephrin α kehilangan seluruh rentetan asam amino sepanjang domain transmembran yang dikode oleh ekson 24 pada manusia dan mewakili bentuk terlarut dari nephrin. Nephrin memiliki tiga residu sistein bebas yang membentuk jembatan disulfida diantara molekul nephrin yang berbeda-beda sehingga interaksi homofilik antara molekul nephrin yang berbeda diatas slit dimungkinkan. Nephrin terbukti dapat membentuk suatu interaksi homofilik dengan nephrin dan suatu interaksi heterofilik dengan Nep1. Interaksi homofilik dari nephrin ekstraselular berafinitas tinggi dan dipromosikan oleh ion kalsium. Nep1 yang berukuran 90 kDa adalah suatu protein dengan homologi dan kemiripan struktural yang lemah dengan nephrin. Hilangnya Nep1 menyebabkan kematian prenatal dengan proteinuria pada tikus Nep1 $-/-$. Massa molekul nephrin adalah 132,5 kDa, sedangkan pada *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) nephrin berjalan sebagai protein doublet 185-200 kDa, mengesankan adanya modifikasi post-translasi. Pada bagian ekstraselular dari nephrin manusia terdapat sepuluh lokasi potensial untuk N-glikosilasi dan telah terbukti bahwa nephrin tikus telah mengalami N-glikosilasi dimana N-glikosilasi dari nephrin diperlukan untuk pelipatan dan lokalisasi yang tepat pada membran plasma. Glikosilasi juga dibutuhkan untuk interaksi yang tepat dengan

Neph1. Nephrin membawa tujuh lokasi penempelan yang potensial dengan heparan sulfat.³⁷

Nephrin juga memiliki *fibronectin typeIII-like domain* pada bagian ekstraselularnya didekat regio transmembran dan suatu bagian C-terminal intraselular. Nephrin memiliki fungsi pensinyalan yang dimampukan oleh sembilan *tyrosines* dari domain intraselular, beberapa difosforilasi selama penempelan ligan begitu juga secara endogen. Nephrin yang teroligomerisasi berhubungan dengan pensinyalan mikrodomin, rakit-rakit lipid, dalam suatu perilaku yang tergantung kolesterol. Injeksi antibodi terhadap *podocyte-specific 9-O-acetylated GD3 ganglioside* in vivo, yang merupakan suatu komponen penting dari rakit-rakit lipid, menyebabkan perubahan morfologis dari slit filtrasi menyerupai *foot process effacement*. Pada model ini, nephrin berdislokasi ke polus apikalis dari slit filtrasi yang menyempit dan terfosforilasi tyrosine. Lebih lanjut lagi, pengelompokkan domain ekstraselular dari nephrin oleh antibodi nephrin menyebabkan gangguan kontak antar sel dan terjadinya fosforilasi dari nephrin oleh *Src family kinases*. Serupa dengan hal tersebut, injeksi intravena antibodi monoklonal 5-1-6 yang spesifik nephrin menginduksi proteinuria masif pada tikus dan menurunkan ekspresi nephrin. Nephrin yang terfosforilasi mampu berikatan dengan subunit regulatorik p85 dari *phosphoinositide 3-OH kinase* (PI3K) dan diaktifasi oleh fosforilasi protein target PI3K, *serine-threonine kinase Akt*. Hal ini menyebabkan fosforilasi molekul-molekul di hulu, salah satunya adalah *proapoptotic Bcl-2 family member, BAD*. Fosforilasi dari *BAD* mencegah apoptosis yang diinduksi pemisahan dan pelindung berfungsinya podosit. Bagaimanapun, Foster, et al. menyimpulkan bahwa terapi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) menyebabkan fosforilasi nephrin bersamaan dengan

penurunan pensinyalan Akt. Glikoprotein VEGF adalah suatu faktor kunci yang menjamin keberlangsungan hidup endotel vaskular. *Down-regulation* atau netralisasi VEGF yang bersirkulasi menyebabkan proteinuria dengan rusaknya sel endotel, perubahan-perubahan podosit, dan berkurangnya ekspresi nephrin. Sitokin-sitokin inflamasi interleukin-1 β dan *tumornecrosis factor- α* mampu meningkatkan ekspresi nephrin pada podosit in vitro dan fenomena ini melibatkan aktifitas suatu protein kinase yang masih belum diketahui. Jalur Protein Kinase C (PKC) kemungkinan juga terlibat dalam pensinyalan nephrin.³⁸



Gambar 2.2.1Nephrin di Area Slit Diafragma.³⁸

Dari gambar diatas jelas terlihat bahwa nephrin adalah protein transmembran dengan domain ekstraselular dan intraselular yang menjadi

pondasi dari *Slit Diaphragm (SD)* dari podosit. Nephtrin terhubung dengan sitoskeleton aktin melalui *podocin* dan CD2AP. Protein-protein tersebut memiliki suatu ciri khas yaitu interaksi mereka dengan jalur pensinyalan PI3K/Akt untuk mempertahankan integritas fungsionalnya. Resistensi insulin pada diabetes melitus tipe 2 akan menekan jalur pensinyalan PI3K/Akt, yang pada akhirnya menyebabkan hilangnya *foot process* dan proteinuria.⁴

2.3 Nephtrin pada Nefropati Diabetik

Injeksi Streptozotocin (STZ) terhadap tikus akan menyebabkan penghancuran sel beta pankreas dalam waktu cepat dan akan menyebabkan fenotipe diabetes melitus tipe 1. Tikus diabetes yang tidak obes/*Non-Obese Diabetic* (NOD) secara spontan akan berkembang menjadi diabetes melitus tipe 1 pada 3 sampai 6 bulan setelah destruksi sel beta yang dimediasi sel T. Pada hewan-hewan coba tersebut dibutuhkan waktu dari 4 sampai 8 minggu setelah onset diabetes akan menunjukkan tanda-tanda awal dari nefropati, seperti pembesaran glomerulus dan albuminuria, apabila kadar gula darah tidak terkontrol dengan baik dengan insulin. Nephtrin bentuk utuh ditemukan pada urin dari tikus STZ dari 4 sampai 6 minggu setelah induksi, walaupun tikus-tikus tersebut belum menunjukkan gejala dan tanda diabetes. Hasil-hasil yang serupa juga diamati pada penelitian-penelitian lainnya dengan peningkatan dini dari ekspresi nephtrin setelah induksi diabetes yang kemudian menurun pada nefropati diabetik tahap lanjut.³⁹

ACE inhibitor dan Angiotensin Receptor Blocker, yang memodulasi Renin-Angiotensin System (RAS), sudah dikenal mengurangi proteinuria. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa agen-agen tersebut dapat menormalkan penurunan ekspresi nephtrin pada penelitian model-model diabetes

baik pada kadar mRNA maupun protein. Penelitian-penelitian yang menggunakan ramipril ataupun valsartan dapat menormalkan perubahan-perubahan struktural, seperti pelebaran podosit *foot process* dan penebalan GBM. Agen-agen yang memodifikasi RAAS juga dapat memodifikasi redistribusi ZO-1 spesifik. Podosit mengekspresikan baik reseptor-reseptor angiotensin II tipe 1 dan tipe 2 serta sudah diketahui bahwa angiotensin II menyebabkan peningkatan cAMP dan pengaturan ulang dari sitoskeleton aktin dari podosit, yang dinormalkan dengan memblok kedua reseptor secara simultan. Stimulasi podosit yang dikulturkan dengan angiotensin II atau albumin yang terglykasi telah terbukti menyebabkan penurunan ekspresi nephrin. Hal ini dimediasi oleh RAGE untuk albumin yang terglykasi dan melalui pengaturan ulang sitoskeletal untuk angiotensin II. Terdapat juga penelitian-penelitian yang kontroversial yang memberikan terapi aminoguanidine, penghambat pembentukan AGE, terhadap tikus diabetes. Satu penelitian menunjukkan tidak adanya efek aminoguanidine terhadap ekspresi nephrin pada model STZ, walaupun dapat mengurangi proteinuria, sedangkan penelitian lainnya menunjukkan normalisasi ekspresi nephrin pada model serupa dan bahkan efek aditif dengan perindopril.⁴⁰ Penelitian oleh Davis juga membuktikan bahwa inhibitor vasopectidase, omapatrilat, berhasil menormalkan penurunan ekspresi nephrin pada model serupa. Hal ini tidaklah mengejutkan sebab inhibitor vasopectidase secara simultan menghambat baik ACE maupun endopeptidase netral, suatu metalopeptidase yang tergantung zinc. Sehingga akan menurunkan kadar molekul efektor vasokonstriktor seperti angiotensin II dan juga meningkatkan kadar agen vasodilator seperti *atrial natriuretic peptide* dan bradikinin.⁴¹ Tampaknya perubahan-perubahan ekspresi nephrin tidak hanya disebabkan

penurunan tekanan darah, dimana *calciumchannel blockers* yang menurunkan tekanan darah sama baiknya dengan Angiotensin Receptor Blocker, valsartan, pada model STZ tidak berefek terhadap penurunan ekspresi nephrin.⁴² Penelitian oleh Blanco, et al. membuktikan pada model tikus Zucker yang menyerupai diabetes melitus tipe 2 bahwa ACE inhibitor, quinapril, meningkatkan ekspresi nephrin sedangkan *calcium channel blocker*, diltiazem, tidak meningkatkan ekspresi nephrin ketika dibandingkan dengan hewan-hewan diabetes yang tidak diterapi. Sayangnya penelitian tersebut tidak membandingkan hasilnya dengan hewan-hewan non-diabetes, sehingga apakah ekspresi nephrin berubah pada model penelitian diabetes melitus tipe 2 dibanding dengan hewan-hewan non-diabetes masih belum diketahui.⁴³

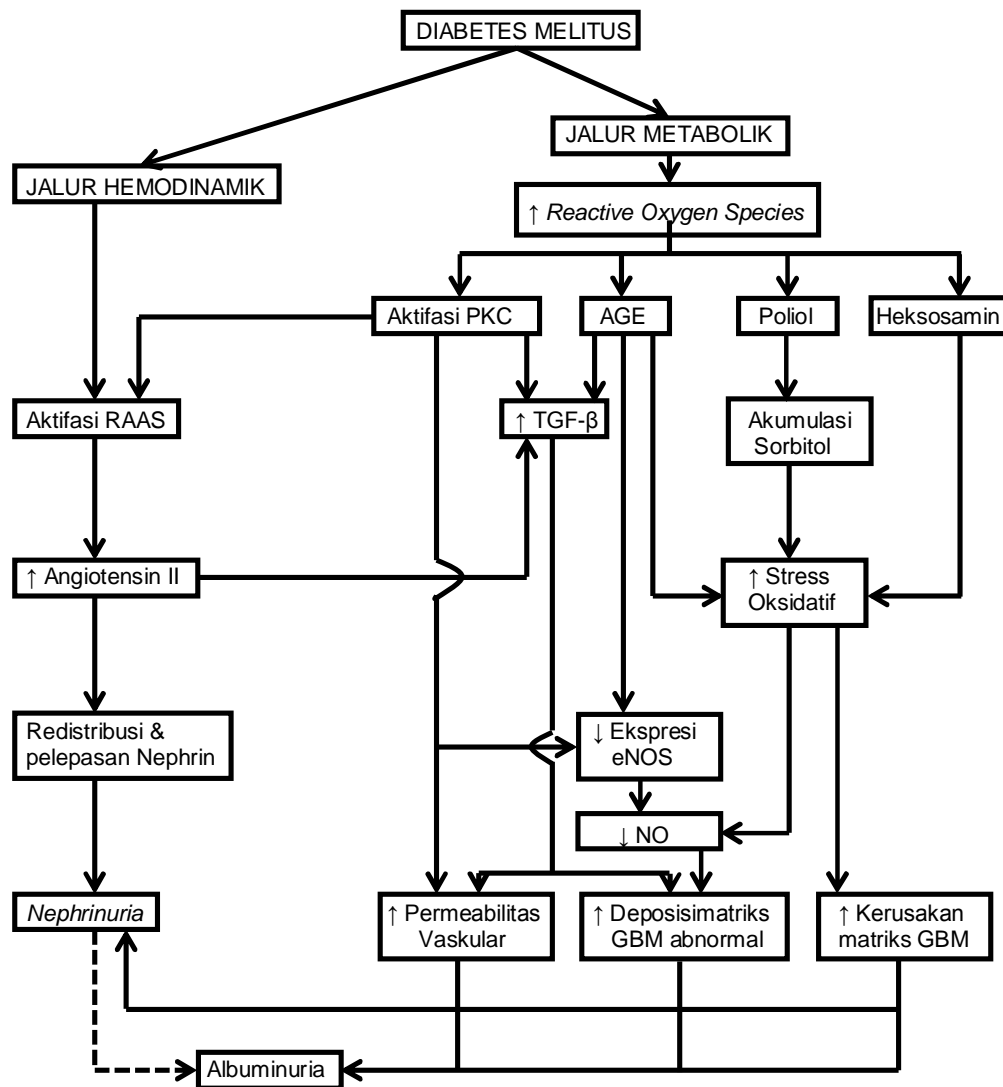
Langham, et al. meneliti biopsi ginjal dari pasien-pasien diabetes melitus tipe 2 dengan proteinuria yang secara acak mendapat ACE inhibitor, perindopril, atau plasebo selama 2 tahun. mRNA nephrin berkurang pada pasien-pasien diabetes dibanding dengan kontrol sehat sebanyak 62% sedangkan pasien-pasien yang diterapi dengan perindopril kadarnya sama dengan kontrol.⁴⁴ Doublier, et al. menemukan adanya penurunan kadar protein nephrin baik pada pasien-pasien diabetes melitus tipe 1 maupun tipe 2 dengan sindroma nefrotik, dimana sudah didapatkan penurunan pengecatan nephrin yang bermakna pada pasien-pasien dengan mikroalbuminuria dan bahwa pola pengecatannya berubah menjadi granuler dari yang normal.⁴⁵ Koop et al. menunjukkan bahwa ekspresi protein nephrin berkurang pada biopsi pasien-pasien nefropati diabetik, sedangkan pengecatan podosin dan podokalsin sama dengan kontrol normal. Pada penelitian ini, mereka menemukan korelasi terbalik antara kadar protein nephrin dengan rerata lebar podosit *foot process*, tetapi tidak didapatkan

hubungan antara nephrin dengan kreatinin serum.⁴⁶ Toyoda, et al. menunjukkan suatu korelasi terbalik antara kadar mRNA nephrin glomerulus dengan proteinuria pada pasien-pasien diabetes melitus tipe 2 dengan nefropati diabetik.⁴⁷ Benigni, et al. melaporkan bahwa pada nefropati diabetik pada pasien-pasien diabetes melitus tipe 2, pengecatan nephrin ekstraselular berkurang; sedangkan pengecatan dengan antibodi nephrin terhadap domain intraselular adalah normal yang mengesankan kemungkinan adanya persimpangan nephrin yang berhubungan dengan diabetes.⁴⁸ Belum ada penelitian pada manusia yang mengevaluasi ekspresi nephrin pada pasien-pasien diabetes normoalbuminuria.³⁸

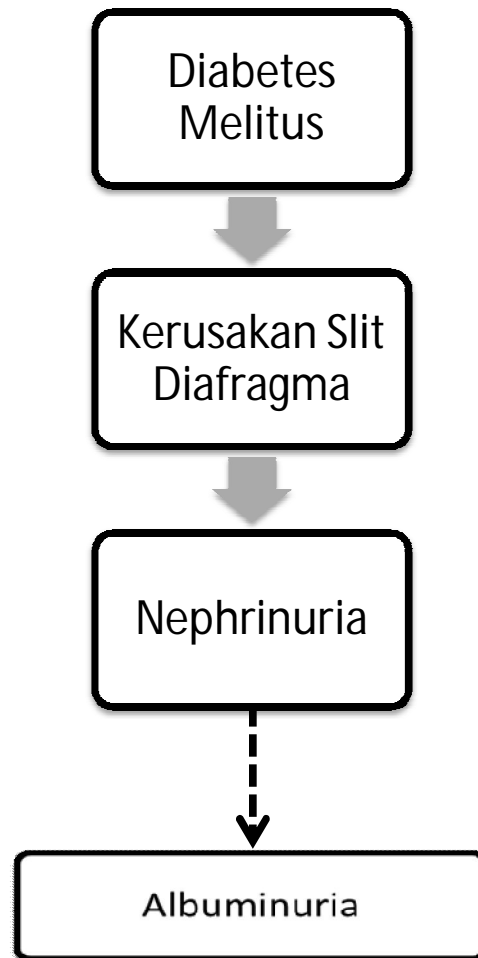
BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan studi observasional kohort retrospektif. Data awal diambil dari penelitian sebelumnya yang tercatat dalam rekam medic dan data akhir diambil secara potong lintang (*cross sectional*), disajikan dalam bentuk deskriptif dan analitik. Dilakukan uji korelasi dan uji regresi antara *nephrinuria* dengan kenaikan ACR dan juga dengan kenaikan kelas ACR; dan *cross tabulation* atau *crosstab* untuk mengetahui peran *nephrinuria* sebagai faktor risiko kenaikan ACR dan juga kenaikan kelas ACR.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Poliklinik Ginjal-Hipertensi dan Poliklinik Endokrinologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang mulai Oktober sampai dengan Desember 2013.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi asal adalah pasien yang berkunjung ke Poliklinik Endokrinologi dari bulan Oktober sampai Desember 2010. Populasi terjangkau adalah pasien DM tipe 2 dengan usia diatas 40 tahun dan kadar kreatinin < 1,5 mg/dL. Sampel adalah populasi terjangkau yang bersedia ikut penelitian. Sampel penelitian direkrut dengan metode sampling konsekutif.

4.4 Persetujuan Penelitian

Semua sampel penelitian diberikan *inform consent* dan penelitian ini dilakukan dengan persetujuan komite etik (lampiran).

4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel Penelitian Pendahuluan

4.5.1 Kriteria Inklusi

Pasien DM tipe 2 dengan usia diatas 40 tahun dan kadar kreatinin <1,5 mg/dL.

4.5.2 Kriteria Eksklusi

Menderita panas, gagal jantung kongestif, infeksi saluran kemih, piuria dan hematuria, penyakit ginjal non-diabetes, dan hipertensi yang sedang mendapat terapi penghambat ACE dan/atau ARB (sebelum penelitian dimulai).

4.6 Besar Sampel

Pada penelitian pendahuluan, jumlah sampelnya sebesar 51 pasien. Pasien tersebut akan kami periksa kembali setelah sekitar 3 tahun, apabila pasien bersedia. Kami mentargetkan minimal adalah 30 pasien sebab menurut Yitnosumarto jumlah sampel tersebut sudah dapat dianggap representatif, karena berdasarkan dalil limit pusat dikatakan bahwa data akan cenderung mendekati distribusi (sebaran) yang normal apabila berjumlah ≥ 30 . Artinya, dengan jumlah sampel minimal 30 orang ini, maka penelitian yang dilakukan dapat digeneralisasikan untuk populasi yang lebih besar, berdasarkan dalil limit pusat dengan tingkat kesalahan yang relative kecil. Dengan semakin besarnya ukuran sampel (n). Maka nilai tengah μ dan ragam σ^2/n akan semakin mendekati sebaran yang normal dari populasi yang diamati.⁴⁹

4.7 Identifikasi Variabel

- Variabel bebas : *nephtrinuria*
- Variabel tergantung : perburukan albuminuria

4.8 Definisi Operasional

- Pasien DM tipe 2 adalah pasien usia >40 tahun yang memenuhi kriteria diagnosis diabetes mellitus berdasarkan *American Diabetic Association*.
- Nefropati diabetic ditegakkan secara klinis bila pada pasien diabetes mellitus didapatkan albumin urine ≥ 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ kreatinin.
- Albumin urin adalah pemeriksaan urin sewaktu dengan menghitung rasio albumin terhadap kreatinin (μg albumin/mg kreatinin), normoalbuminuria bila <30 $\mu\text{g}/\text{mg}$, mikroalbuminuria bila kadar antara 30-299 $\mu\text{g}/\text{mg}$, dan makroalbuminuria bila kadar ≥ 300 $\mu\text{g}/\text{mg}$.
- Hipertensi adalah bila tekanan sistolik ≥ 140 mmHg atau diastolic ≥ 90 mmHg dengan posisi duduk tegak, menggunakan sphygmomanometer air raksa setelah istirahat 5 menit dan diambil nilai rata-rata dari 3 kali pengukuran.
- Pyuria adalah jumlah leukosit dalam urin alias $>5/\text{lpb}$.
- Hematuria adalah jumlah eritrosit dalam urin alias $>5/\text{lpb}$.
- Gagal jantung kongestif adalah adanya gejala dan tanda gagal jantung kiri dan kanan.
- Febris adalah suhu ketiak $>37,5^{\circ}\text{C}$ dengan pengukuran selama 5 menit.
- *Nephrinuria* adalah pemeriksaan sampel urin dengan antibody *human nephrin* dan jika didapatkan pita protein yang tampak dengan *western blot* dianggap positif *nephrinuria* (dinyatakan sebagai positif atau negatif).

4.9 Metode Pemeriksaan Nephrin Urin

- Sampel urin dipresipitasi dengan 10% asam trichloroacetic dalam PBS selama 30 menit.
- Kemudian disentrifus pada 13.100 g pada suhu 4°C selama 10 menit.

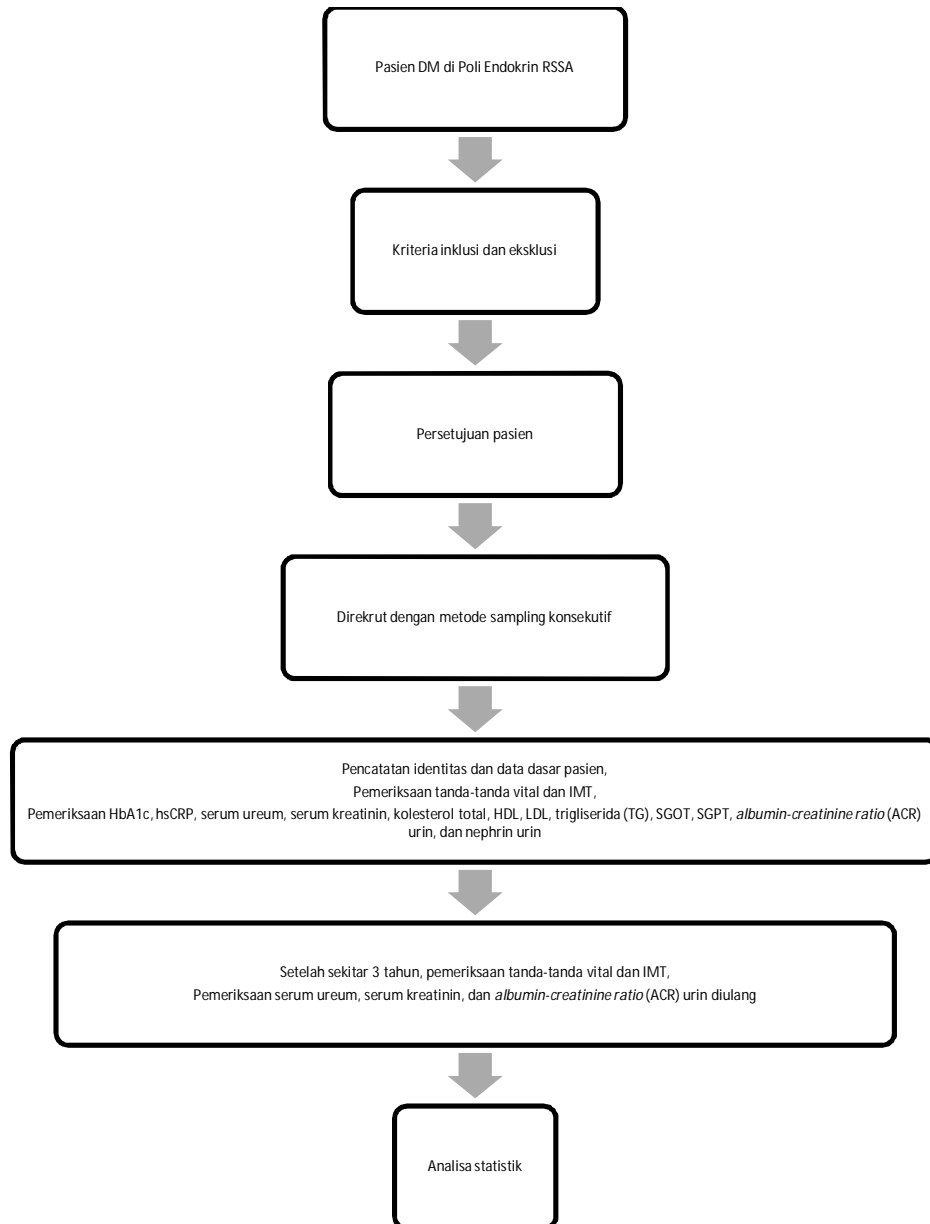
- Presipitat dicuci dua kali dengan aseton dingin.
- Kemudian dikeringkan di ruangan dan *dissolved* dalam buffer Laemmli (62,5 mmol/L Tris-HCl (pH 6,8), 10% gliserol, 2% SDS, 5% 2-mercaptoethanol, dan 0,05% bromophenol blue) diikuti pemanasan pada suhu 95°C selama 5 menit.
- Sampel kemudian dianalisa dalam 10% gel polyacrylamide dengan system elektroforesis Protean Mini-gel menggunakan Ready Gels.
- Protein-protein kemudian ditransfer dalam filter nitroselulose diikuti dengan bloking selama 2 jam pada suhu ruangan dengan 3% non-fat dried milk dalam PBS.
- Filter diinkubasi dengan antibodi primer dalam PBS yang mengandung 1% non-fat dried milk dan 0,02% sodium azid pada suhu ruangan selama 1 jam kemudian dicuci beberapa kali dalam PBS yang mengandung 0,2% Tween 20.
- Kemudian filter diinkubasi dengan *horseradish* peroksidase yang dilabel dengan antibodi sekunder (Human nephrin, recombinant protein alpha-435; Rabbit polyclonal, rabbit 338 dan 380) selama 1 jam pada suhu ruangan dan dicuci seperti diatas.
- Ikatan antibodi dideteksi dengan Super Signal ECL Substrate.
- Adanya pita protein yang tampak dengan *western blot* dianggap *nephrinuria* positif.

4.10 Analisa Statistik

Data diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Apabila distribusi data normal maka dilakukan uji beda dengan uji statistic parametric *t-test*. Apabila distribusi data tidak normal maka dilakukan uji statistik non-

parametrik Wilcoxon dan jika bermakna maka dilakukan uji statistik Mann-Whitney. Dilakukan uji korelasi dan uji regresi antara *nephirinuria* dengan kenaikan ACR dan juga dengan kenaikan kelas ACR; dan *cross tabulation* atau *crosstab* untuk mengetahui peran *nephirinuria* sebagai faktor risiko kenaikan ACR dan juga kenaikan kelas ACR. Analisa data menggunakan SPSS versi 17.0. dianggap bermakna secara statistik bila $p < 0,05$.

4.11 Kerangka Kerja



4.12 Jadwal Penelitian

Tabel 4.12.1. Jadwal Penelitian

Aktifitas	Desember 2013	Januari 2013	Februari 2014	Maret 2014
Proposal	X			
Pengumpulan data	X	X		
Analisa			X	
Penulisan laporan			X	X
Presentasi				X

4.13 Perkiraan Biaya

Tabel 4.13.1. Perkiraan Biaya

No	Uraian	Satuan	Jumlah	Biaya satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1	Dulbecco Phosphate Buffer Saline	Pak	1	780.000,00	780.000,00
2	Na ₂ HPO ₄	100 gram	1	720.000,00	720.000,00
3	NaH ₂ PO ₄	100 gram	1	840.000,00	840.000,00
4	Polyacrilamide	100 gram	1	920.000,00	920.000,00
5	SDS	100 gram	1	850.000,00	850.000,00
6	TrisHCl	100 gram	1	820.000,00	820.000,00
7	Gliserol	250 gram	1	650.000,00	650.000,00
8	Non-fat dried milk	150 gram	1	50.000,00	50.000,00
9	Polyclonal Anti Human Nephrin 338 Antibody	vial	1	5.500.000,00	5.500.000,00
Jumlah biaya					11.130.000,00

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Dasar Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien DM tipe 2 dengan usia diatas 40 tahun dan kadar kreatinin <1,5 mg/dL yang berkunjung ke Poliklinik Endokrinologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang dari bulan Oktober sampai Desember 2010 sejumlah 51 subjek penelitian. Data awal berupa indicator klinis serta laboratoris kami dapatkan dari catatan rekam medik.

Sampel penelitian adalah populasi penelitian yang bersedia ikut penelitian kembali pada Oktober sampai Desember 2013 sejumlah 34 subjek penelitian dimana dilakukan pemeriksaan dan pencatatan indicator klinis serta laboratoris. Selanjutnya disebut data akhir.

Semua subjek penelitian mengikuti prosedur yang ditetapkan dalam penelitian dan menyetujui serta menandatangani *inform consent* yang diberikan.

Tabel 5.1.1 Karakteristik Dasar Subjek Penelitian.

Karakteristik Dasar	Data Akhir (N=34)
Usia (tahun)	57 ± 10
Jenis kelamin	
Laki-laki	12 (35,3)*
Perempuan	22 (64,7)*
Lama menderita DM (bulan)	71,7 ± 69,3
Nephrinurin	
Positif	23 (67,6)*
Negatif	11 (32,4)*

Data: Mean ± SD; * n (%)

Tabel 5.1.2 Karakteristik Dasar Subjek Penelitian antara Data Awal dan Data Akhir.

Karakteristik Dasar	Data Awal	Data Akhir	p*
Indeks Massa Tubuh (kg/m ²)	23,6 ± 1,6	25,7 ± 4,2	0,003
Tekanan Darah Sistolik (mmHg)	122,5 ± 13,9	136,3 ± 18,3	0,000
Tekanan Darah Diastolik (mmHg)	76,7 ± 9,5	85,0 ± 8,7	0,000
Ureum (mg/dL)	29,8 ± 9,8	30,9 ± 15,3	0,516
Kreatinin (mg/dL)	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,3	0,535
Albumin Creatinine Ratio (µg/mg)	59,5 ± 107,8	114,7 ± 248,5	0,197

Data: Mean ± SD; * p<0,05 dianggap bermakna secara statistik

Tabel 5.1.3 Karakteristik Klinis Subjek Penelitian yang Dibagi Kedalam 2 Kelompok Berdasarkan Ada-Tidaknya *Nephrinuria* pada Data Awal.

Karakteristik Dasar	<i>Nephrinuria</i> (+) (N=23)	<i>Nephrinuria</i> (-) (N=11)	p*
Usia (tahun)	58,65 ± 10,73	53,64 ± 7,81	0,177
Jenis kelamin			0,586
Laki-laki	9 (39,1%)	3 (27,3%)	
Perempuan	14 (60,9%)	8 (72,7%)	
Lama menderita DM (bulan)	82,35 ± 73,37	49,55 ± 56,80	0,202
Indeks Massa Tubuh (kg/m ²)	25,62 ± 4,27	25,76 ± 4,35	0,930
Tekanan Darah Sistolik (mmHg)	135,43 ± 19,12	138,18 ± 17,22	0,689
Tekanan Darah Diastolik (mmHg)	84,57 ± 8,38	85,91 ± 9,70	0,680

Data: Mean ± SD; * p<0,05 dianggap bermakna secara statistik

Tabel 5.1.4 Karakteristik Laboratoris Subjek Penelitian yang Dibagi Kedalam 2 Kelompok Berdasarkan Ada-Tidaknya *Nephrinuria* pada Data Awal.

Karakteristik Dasar	<i>Nephrinuria</i> (+) (N=23)	<i>Nephrinuria</i> (-) (N=11)	p*
Ureum (mg/dL)	33,22 ± 17,72	26,00 ± 6,88	0,099
Kreatinin (mg/dL)	0,90 ± 0,31	0,84 ± 0,21	0,546
ACR (mg/g)	150,61 ± 293,87	39,636 ± 67,710	0,176

*Signifikan apabila nilai p<0,05

5.2 Hubungan Sebab Akibat antara Kenaikan ACR dengan *Nephrinuria*

Dari nilai korelasi menunjukkan nilai koefisien sebesar 0,142 dengan p=0,211 (p>0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan atau bermakna antara *nephrin* dengan kenaikan ACR. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kenaikan ACR tidak berkaitan dengan *nephrinuria* positif atau negatif.

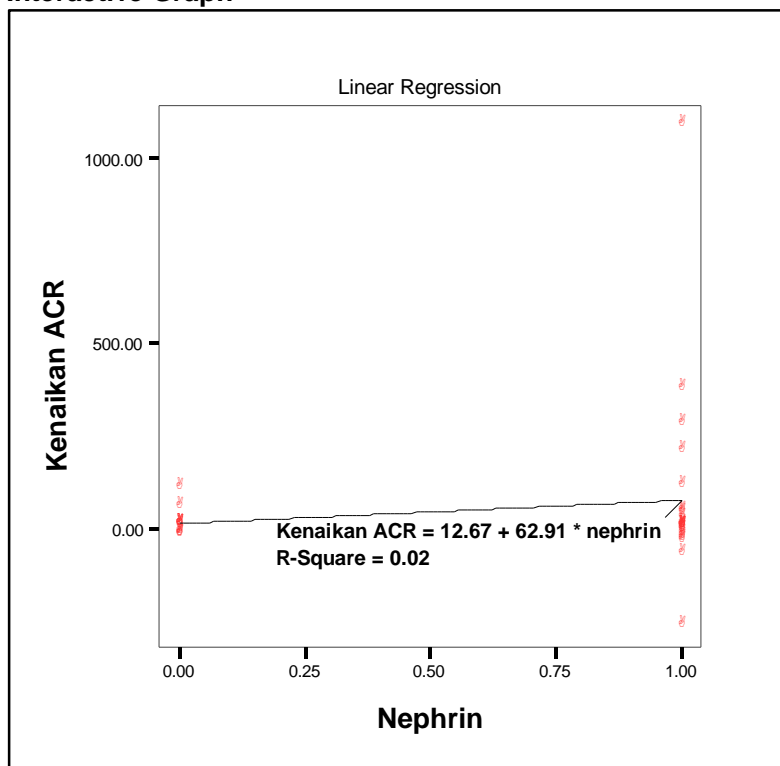
Untuk nilai koefisien determinasi (R square) menunjukkan sebesar 0,020. R square ini menyatakan besarnya pengaruh dari nephrin terhadap kenaikan ACR. Artinya sebesar 2,0% keragaman dari kenaikan ACR dipengaruhi oleh faktor nephrin. Sedangkan sisanya 98,0% ditentukan oleh faktor lain di luar variabel yang diteliti.

Persamaan regresi $Y = 12,673 + 62,914 X$

Y= kenaikan ACR dan X=nephrin

Berdasarkan persamaan di atas dengan mengambil taraf nyata (signifikansi) sebesar 5% (0,05), untuk konstanta diperoleh nilai signifikansi (p) sebesar 0,844 yang lebih besar dari 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa konstanta tidak berpengaruh nyata terhadap model regresi. Untuk variabel Nephrin menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,423 yang lebih besar dari alpha 0,05. Maka dapat disimpulkan bahwa *neph rinuria* tidak berpengaruh signifikan terhadap kenaikan ACR.

Interactive Graph



Gambar 5.2.1 Grafik Regresi Linear antara Kenaikan ACR dengan *Nephrinuria*.

Berdasarkan grafik linieritas di atas terlihat bahwa garis regresi antara *nephrinuria* dengan kenaikan ACR cenderung sedikit mengarah ke kanan atas. Hal ini menunjukkan adanya linieritas yang lemah antara *nephrinuria* dengan kenaikan ACR tersebut, meskipun secara statistik tidak berpengaruh signifikan (bermakna). Artinya, pada pasien dengan *nephrinuria* positif, cenderung akan diikuti oleh adanya peningkatan ACR. Demikian sebaliknya. Pada pasien dengan *nephrinuria* negatif, cenderung akan diikuti oleh adanya ACR yang lebih rendah.

5.3 *Nephrinuria* sebagai Faktor Risiko Kenaikan ACR

		Kenaikan ACR	Tanpa kenaikan ACR	JUMLAH
<i>NEPHRINURIA</i>	(+)	14	11	23
	(-)	7	4	11

Sensitivitas = 66,67%

Spesifisitas = 26,67%

Nilai duga positif = 60,87%

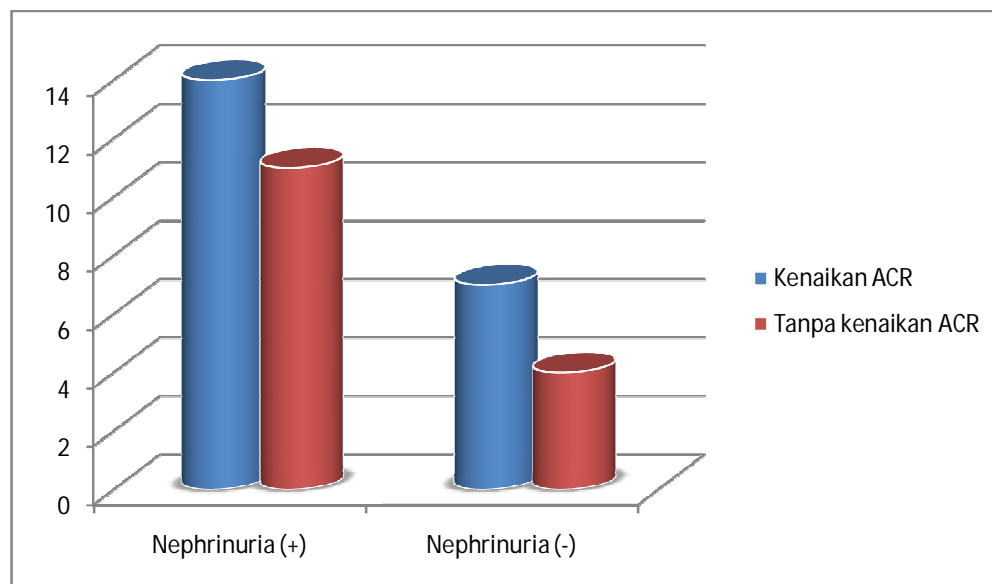
Nilai duga negatif = 36,36 %

Rasio kemungkinan positif = 0,909

Rasio kemungkinan negatif = 1,249

Akurasi = 52,94%

Risiko relatif (RR) = 0,957 (95% CI: 0,550-1,665)



Gambar 5.3.1 *Nephrinuria* sebagai Faktor Risiko Kenaikan ACR.

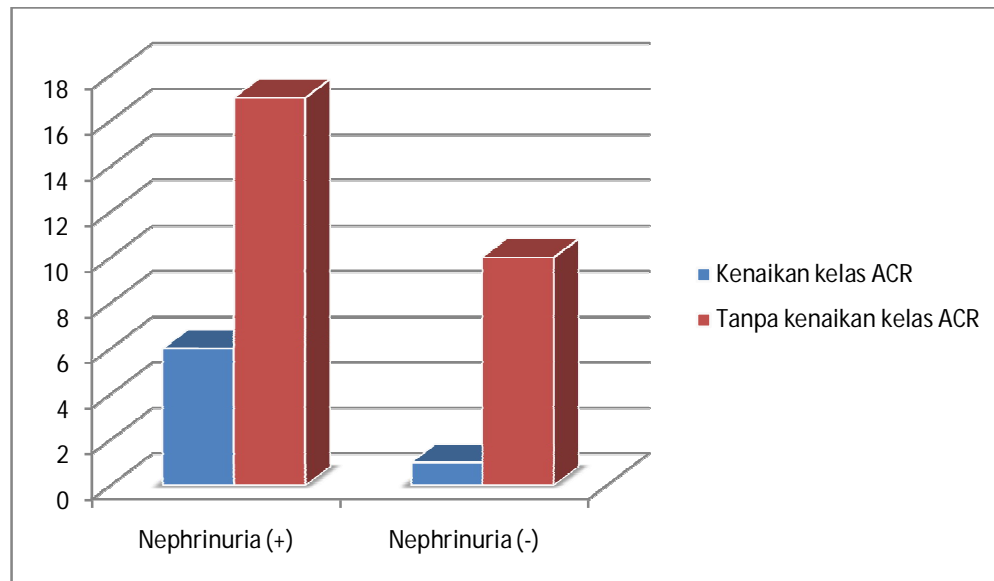
5.4 Hubungan Sebab Akibat antara Kenaikan Kelas ACR dengan *Nephrinuria*

Cox & Snell R square menunjukkan nilai koefisien determinasi (*R square*) sebesar 0,042, menyatakan besarnya pengaruh *nephrinuria* terhadap kenaikan kelas ACR. Artinya, sebesar 4,2% variasi kenaikan kelas ACR ditentukan oleh faktor *nephrinuria*. Sedangkan sisanya 95,8% ditentukan oleh faktor lain di luar persamaan model regresi. Koefisien determinasi bernilai positif, artinya pada pasien dengan *nephrinuria*, cenderung akan diikuti oleh adanya peningkatan kelas ACR. Namun hal ini tidak bersifat signifikan, karena nilai signifikansinya sebesar 0,273 ($p > 0.05$).

5.5 *Nephrinuria* sebagai Faktor Risiko Kenaikan Kelas ACR

	Kenaikan kelas ACR1	Tanpa kenaikan kelas ACR	JUMLAH
(+)	6	17	23
<i>NEPHRINURIA</i>			
(-)	1	10	11

Sensitivitas	= 85,71 %
Spesifisitas	= 37,04%
Nilai duga positif	= 26,09%
Nilai duga negatif	= 90,91 %
Rasio kemungkinan positif	= 1,361
Rasio kemungkinan negatif	= 0,386
Akurasi	= 47,06%
Risiko relatif (RR)	= 2,870 (95% CI: 0,392–21,021)



Gambar 5.5.1 *Nephrinuria* sebagai Faktor Risiko Kenaikan Kelas ACR.

BAB VI

PEMBAHASAN

Rerata lama menderita DM dari subjek penelitian dengan *nephrinuria* (+) (82,35 bulan) adalah lebih lama dibanding subjek penelitian dengan *nephrinuria* (-) (49,55 bulan). Dan rerata kadar HbA1c pada subjek penelitian dengan *nephrinuria* (+) juga lebih tinggi (12,20% dibanding 10,27%). Kedua karakteristik dasar ini mendukung teori mengenai hubungan antara hiperglikemia, *nephrinuria*, dan nefropati diabetik. Terdapat bukti yang menunjukkan ketika podosit dalam kultur sel diberi angiotensin dan albumin yang terglisosilasi (paparan yang sesuai dengan diabetes), maka akan menyebabkan terlepasnya domain ekstra selular molekul nephrin dari permukaan sel podosit kedalam rongga atau celah urinarius.⁴⁵ Dimana nephrin merupakan protein yang unik karena dapat memodulasi respon dari podosit terhadap insulin. Sehingga podosit yang telah kehilangan nephrin akan mengalami suatu kondisi resistensi insulin. Mekanismenya yaitu apabila tidak ada nephrin maka fusi transporter glukosa GLUT4 dan GLUT1 ke membran sel plasma menjadi terganggu.⁴ Resistensi insulin dari podosit saja sudah cukup untuk dapat menghasilkan tanda-tanda dari nefropati diabetik, yang juga telah dibuktikan dalam suatu penelitian dimana tikus percobaan yang telah dihilangkan reseptor insulinnya walaupun dalam kondisi normoglikemia sudah menunjukkan tanda-tanda nefropati diabetik.¹² Sehingga, kondisi diabetes dapat menghasilkan suatu lingkaran setan atau siklus yang membahayakan berupa hiperglikemia, lepasnya nephrin, resistensi insulin dari podosit, hiperglikemia yang semakin berat, nefropati diabetik, dan sampai dengan penyakit ginjal tahap akhir.⁴

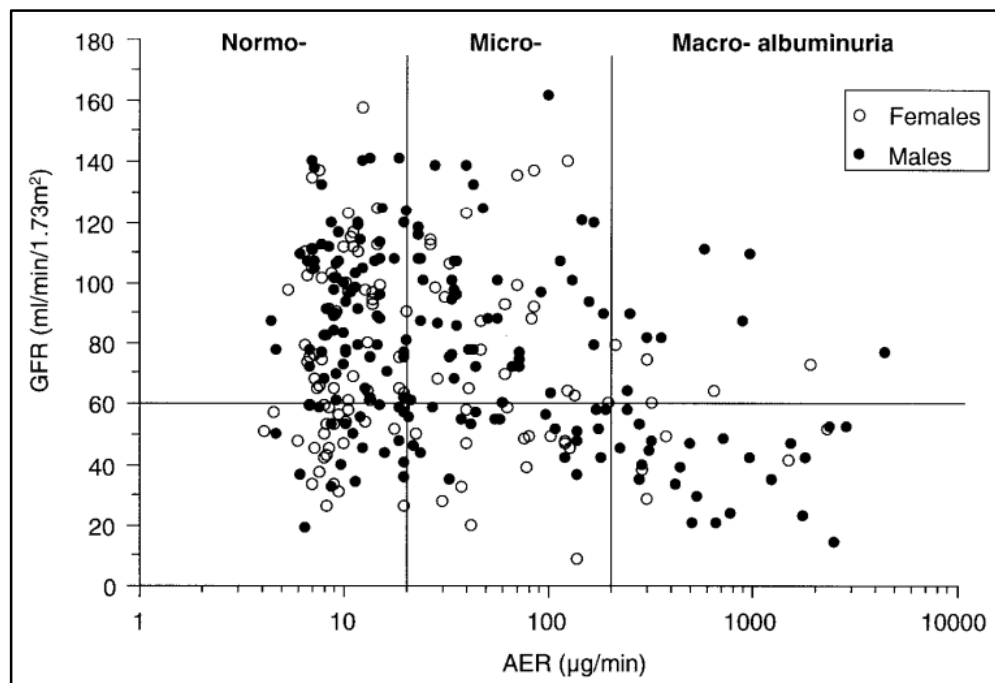
Hasil uji korelasi antara kenaikan ACR dengan *nephrinuria* tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,142 dengan $p=0,211$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa kenaikan ACR tidak berkaitan dengan *nephrinuria* positif atau negatif. Hasil uji regresi logistik antara kenaikan kelas ACR dengan *nephrinuria* juga tidak bersifat signifikan, karena nilai signifikansinya sebesar 0,273 ($p>0,05$). Kemungkinan penyebab tidak signifikannya kedua hubungan diatas adalah metode deteksi *nephrinuria* yang menggunakan *Western blotting*, tidak terkuantifikasinya kadar *nephrinuria*, dan adanya peran molekul-molekul spesifik podosit lainnya dalam peningkatan progresifitas nefropati diabetik.

Penelitian oleh Patari et al. menemukan *nephrinuria* pada sepertiga pasien-pasien diabetes yang normoalbuminuria. Tetapi Patari et al. mendapatkan *nephrinuria* pada semua derajat albuminuria, seperti normo-, mikro-, makro- yang baru ditemukan, dan makroalbuminuria. Dimana metode deteksi *nephrinuria* yang digunakan oleh Patari et al. adalah dengan *Western blotting*, yang menunjukkan ada atau tidaknya fragmen-fragmen nephrin. Mereka menggunakan suatu antibodi yang mendeteksi bagian-bagian dari domain intra dan ekstraselular nephrin (asam-asam amino 1031-1055 dan 1096-1215). Karena kadar *nephrinuria* tidak dikuantifikasi, sehingga tidak dapat dengan segera dijelaskan secara nyata apakah terdapat hubungan dengan albuminuria.⁹

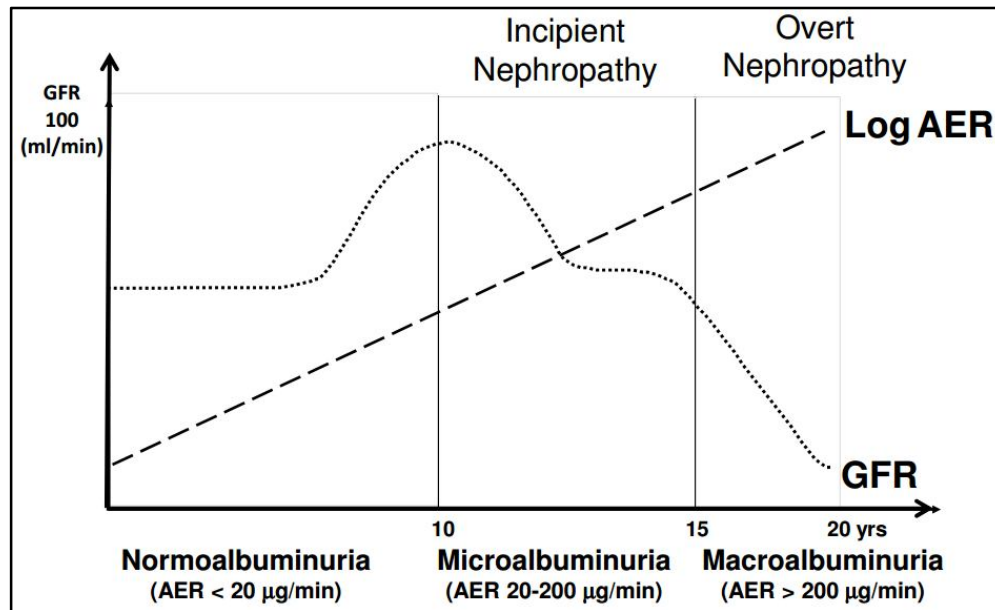
Sebaliknya penelitian oleh Jim et al. menemukan bahwa *nephrinuria* terlihat pada tahap awal dari penyakit (pada 54% pasien dengan normoalbuminuria) dan meningkat pada penyakit stadium lanjut (makroalbuminuria). Berlawanan dengan penelitian Patari et al., penelitian Jim et al. membuktikan korelasi yang signifikan antara *nephrinuria* dengan albuminuria.

Mereka menggunakan metode ELISA yang memanfaatkan antibodi yang mendeteksi domain ekstraselular nephrin (asam amino 23-322) sehingga *nephrinuria* dapat dikuantifikasi.⁴

Hubungan antara GFR dengan ACR telah diteliti pada suatu penelitian dengan sampel penelitian 301 pasien diabetes melitus tipe 2, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6.1 dan 6.2. Hasilnya adalah suatu korelasi yang bermakna antara suatu penurunan GFR dengan peningkatan ACR ($r = -0,29$, $p < 0,0001$).⁵² Sehingga hal ini dapat menjelaskan hasil dari penelitian kami yang menunjukkan tidak adanya hubungan yang bermakna antara kenaikan ACR dan juga kenaikan kelas ACR dengan *nephrinuria*, sebab sampel penelitian kami memiliki kadar serum kreatinin yang normal.



Gambar 6.1 Distribusi 301 Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 yang Dibagi Berdasarkan GFR (yaitu, $< \text{atau} \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$) dan ACR (yaitu, Normo- ($< 20 \text{ mg/menit}$), Mikro- ($20\text{-}200 \text{ mg/menit}$), atau Makroalbuminuria ($> 200 \text{ mg/menit}$)).⁵²



Gambar 6.2 Evolusi Nefropati Diabetik.⁵²

Nephrinuria juga telah terbukti memiliki suatu hubungan yang signifikan dengan eGFR yang lebih rendah diantara pasien-pasien normoalbuminuria pada suatu populasi di Cina, menunjukkan bahwa pasien-pasien dengan *nephrinuria* berisiko berkembang menjadi insufisiensi renal.⁵⁰ Penelitian lain oleh Zheng et al. mendemonstrasikan bahwa mRNA synaptopodin, podocin, dan molekul-molekul spesifik podosit lainnya didalam urin meningkat seiring dengan semakin progresifnya nefropati diabetik.⁵¹

Sepanjang pengetahuan kami, inilah penelitian pertama yang meneliti hubungan kausal antara *nephrinuria* dan albuminuria (ACR) dengan metode kohort retrospektif.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- Dari hasil penelitian kami menunjukkan bahwa *nephrinuria* tidak terbukti sebagai faktor risiko nefropati diabetik pada pasien DM tipe 2.

7.2 Keterbatasan Penelitian

- Hipotesis tidak terbukti.
- Data ACR yang tidak berdistribusi normal.
- *Nephrinuria* diperiksa dengan metode kualitatif menggunakan metode *Western blotting*.
- Kadar kreatinin subjek penelitian di awal dan akhir penelitian tidak berbeda signifikan.

7.3 Saran

- Menambah jumlah subjek penelitian.
- *Nephrinuria* diperiksa dengan metode kuantitatif menggunakan metode ELISA.
- Memperpanjang lama *follow-up*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dorland WAN, 2000. Kamus Kedokteran Dorland, E/29, Huriawati Hartanto (penterjemah), 2002, EGC, Jakarta, Indonesia, hal. 1442-1443.
2. Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, et al. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Ed., McGraw-Hill Companies Inc., USA, p. 2288.
3. Codario RA. 2011. *Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome*, 2nd Ed., Humana Press, New York, USA, p. 201.
4. Jim B, Ghanta M, Qipo A, Fan Y, Chuang PY, Cohen HW, et al. Dysregulated Nephron in Diabetic Nephropathy of Type 2 Diabetes: A Cross Sectional Study. *PLoS ONE*, 2012; 7 (5): 1-7.
5. Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia*, 1999; 42: 1341-1344.
6. Arya A, Aggarwal S, Yadav HN. Pathogenesis Of Diabetic Nephropathy. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2010; 2 (4): 24-29.
7. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Ebihara I, et al. Urinary Excretion of Podocytes in Patients with Diabetic Nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2000; 15: 1379-1383.
8. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, Nelson RG, Myers BD, Rennke HG, et al. Podocyte Loss and Progressive Glomerular Injury in Type II Diabetes. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99 (2): 342-348.
9. Patari A, Forsblom C, Havana M, Taipale H, Groop PH, Holthofer H. Nephropathy in Diabetic Nephropathy of Type 1 Diabetes. *Diabetes*, 2003; 52: 2969-2974.
10. Puspa B, Samsu N, Soeatmadji DW. 2012. *Hubungan antara Nephropathy dengan Derajat Albuminuri pada Pasien Diabetes Mellitus tipe 2*. Karya Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
11. Fornoni A. Proteinuria, the Podocyte, and Insulin Resistance. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 363 (21): 2068-2069.

12. Welsh GI, Hale LJ, Eremina V, Jeansson M, Maezawa Y, Lennon R, et al. Insulin Signaling to the Glomerular Podocytes is Critical for Normal Kidney Function. *Cell Metabolism*, 2010; 12: 329-340.
13. Brownlee M. Banting Lecture 2004, The Pathobiology of Diabetic Complications, a Unifying Mechanism. *Diabetes*, 2005; 54: 1615-1625.
14. Karalliedde J, Viberti G. Proteinuria in Diabetes: Bystander or Pathway to Cardiorenal Disease?. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2010; 21: 2020–2027.
15. Wolf G, Ziyadeh FN. Cellular and Molecular Mechanisms of Proteinuria in Diabetic Nephropathy. *Nephron Physiol.*, 2007; 106: 26-31.
16. Patrakka J. 2001. *Nephrin Role in Human Glomerulogenesis and Nephrotic Disorders*. Disertasi. Tidak diterbitkan, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
17. Savage CO. The Biology of the Glomerulus: Endothelial Cells. *Kidney Int.*, 1994; 45 (2): 314-319.
18. Dworkin LD, Brenner BM. Biophysical Basis of Glomerular Filtration. *The Kidney*, 1992: 979.
19. Satchell SC, Tooke JE. What is the Mechanism of Microalbuminuria in Diabetes: a Role for the Glomerular Endothelium?. *Diabetologia*, 2008; 51: 714-725.
20. Ahola H. 2003. *Nephrin Expression, Localization and Role as an Interacting Molecule, Emphasis on Kidney Glomerular Podocytes*. Disertasi. Tidak diterbitkan, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
21. Farquhar MG. Editorial: The primary glomerular filtration barrier--basement membrane or epithelial slits?. *Kidney Int.*, 1975; 8 (4): 197-211.
22. Osterby R, Gundersen HJG, Horlyck A, Kroustrup JP, Nyberg G, Westberg G. Diabetic Glomerulopathy, Structural Characteristics of the Early and Advanced Stages. *Diabetes*, 1983; 32 (2): 79-82.
23. Gnudi L, Thomas SM, Viberti G. Mechanical Forces in Diabetic Kidney Disease: A Trigger for Impaired Glucose Metabolism. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007; 18: 2226–2232.
24. Gnudi L. Cellular and Molecular Mechanisms of Diabetic Glomerulopathy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2012; 0: 1-8.

25. Gassler N, Elger M, Kranzlin B, Kriz W, Gretz N, Hahnel B, et al. Podocyte Injury Underlies the Progression of Focal Segmental Glomerulosclerosis in the fa/fa Zucker Rat. *Kidney Int.*, 2001; 60: 106-116.
26. Kriz W, Elger M, Nagata M, Kretzler M, Uiker S, Koeppen-Hageman I, et al. The Role of Podocytes in the Development of Glomerular Sclerosis. *Kidney Int. Suppl.*, 1994; 45: 64-72.
27. Arima S, Ito S. The Mechanisms Underlying Altered Vascular Resistance of Glomerular Afferent and Efferent Arterioles in Diabetic Nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2003; 18: 1966–1969.
28. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes. *Diabetes*, 2008; 57: 1446-1454.
29. Burt DJ, Gruden G, Thomas SM, Tutt P, Dell'Anna C, Viberti GC, et al. P38 Mitogen-Activated Protein Kinase Mediates Hexosamine-Induced TGF β 1 mRNA Expression in Human Mesangial Cells. *Diabetologia*, 2003; 46 (4): 531-537.
30. Busch M, Franke S, Ruster C, Wolf G. Advanced Glycation End-Products and the Kidney. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2010; 40 (8): 742-755.
31. Meier M, Menne J, Haller H. Targeting the Protein Kinase C Family in the Diabetic Kidney: Lessons from Analysis of Mutant Mice. *Diabetologia*, 2009; 52 (5): 765-775.
32. Kume S, Thomas MC, Koya D. Nutrient Sensing, Autophagy, and Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, 2012; 61: 23-29.
33. Kitada M, Takeda A, Nagai T, Ito H, Kanasaki K, Koya D. Dietary Restriction Ameliorates Diabetic Nephropathy through Anti-Inflammatory Effects and Regulation of the Autophagy via Restoration of Sirt1 in Diabetic Wistar Fatty (fa/fa) Rats: A Model of Type 2 Diabetes. *Experimental Diabetes Research*, 2011; 10: 1-11.
34. Inoki K, Mori H, Wang J, Suzuki T, Hong SK, Yoshida S, et al. mTORC1 Activation in Podocytes is a Critical Step in the Development of Diabetic Nephropathy in Mice. *J. Clin. Invest.*, 2011; 121(6): 2181-2196.
35. Holmberg C, Laine J, Ronnholm K, Ala-Houhala M, Jalanka H. Congenital Nephrotic Syndrome. *Kidney Int. Suppl.*, 1996; 53: 51-56.

36. Rantanen M, Palmen T, Patari A, Ahola H, Lehtonen S, Astrom E, et al. Nephrlin TRAP Mice Lack Slit Diaphragms and Show Fibrotic Glomeruli and Cystic Tubular Lesions. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002; 13: 1586-1594.
37. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, et al. Positionally Cloned Gene for a Novel Glomerular Protein-Nephrlin-Is Mutated in Congenital Nephrotic Syndrome. *Molecular Cell*, 1998; 1: 575-582.
38. Patari A. 2005. *Nephrlinin Diabetes and in Diabetes-Related Conditions, Emphasis on Urinary Proteins Immunoreactive with Nephrlin Antibodies*. Disertasi. Tidak diterbitkan, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
39. Forbes JM, Bonnet F, Russo LM, Burns WC, Cao Z, Candido R, et al. Modulation of Nephrlin in the Diabetic Kidney: Association with Systemic Hypertension and Increasing Albuminuria. *J. Hypertens.*, 2002; 20 (5): 985-992.
40. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, et al. Renoprotective Effect of the Angiotensin-Receptor Antagonist Irbesartan in Patients with Nephropathy due to Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 2001; 345 (12): 851-860.
41. Kelly DJ, Aaltonen P, Cox AJ, Rumble JR, Langham R, Panagiotopoulos S, et al. Expression of the Slit-Diaphragm Protein, Nephrlin, in Experimental Diabetic Nephropathy: Differing Effects of Anti-proteinuric Therapies. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2002; 17: 1327-1332.
42. Davis BJ, Johnston CI, Burrell LM, Burns WC, Kubota E, Cao Z, et al. Renoprotective Effects of Vasopeptidase Inhibition in an Experimental Model of Diabetic Nephropathy. *Diabetologia*, 2003; 46:961-971.
43. Blanco S, Bonet J, Lopez D, Casas I, Romero R. ACE Inhibitors Improve Nephrlin Expression in Zucker Rats with Glomerulosclerosis. *Kidney Int. Suppl.*, 2005; 93: 10-14.
44. Langham RG, Kelly DJ, Cox AJ, Thomson NM, Holthofer H, Zaoui P, et al. Proteinuria and the Expression of the Podocyte Slit Diaphragm Protein, Nephrlin, in Diabetic Nephropathy: Effects of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition. *Diabetologia*, 2002; 45:1572-1576.
45. Doublier S, Salvidio G, Lupia E, Ruotsalainen V, Verzola D, Deferrari G, et al. Nephrlin Expression is Reduced in Human Diabetic Nephropathy Evidence for

- a Distinct Role for Glycated Albumin and Angiotensin II. *Diabetes*, 2003; 52: 1023-1030.
46. Koop K, Eikmans M, Baelde HJ, Kawachi H, de Heer E, Paul LC, et al. Expression of Podocyte-Associated Molecules in Acquired Human Kidney Diseases. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 2063-2071.
 47. Toyoda M, Suzuki D, Umezono T, Uehara G, Maruyama M, Honma M, et al. Expression of Human Nephric mRNA in Diabetic Nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2004; 19: 380-385.
 48. Benigni A, Gagliardini E, Tomasoni S, Abbate M, Ruggenenti P, Kalluri R, et al. Selective Impairment of Gene Expression and Assembly of Nephric Human Diabetic Nephropathy. *Kidney Int.*, 2004; 65: 2193-2200.
 49. Yitnosumarto, S. 1994. *Dasar-Dasar Statistika*, Edisi I, cetakan ke-2, Penerbit PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta, Indonesia, hal. 195.
 50. Ng DP, Tai BC, Tan E, Leong H, Nurbaya S, Lim XL, et al. Nephric Associates with Multiple Renal Traits in Type 2 Diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2011; 26: 2508-2514.
 51. Zheng M, Lv LL, Ni J, Ni HF, Li Q, Ma KL, et al. Urinary Podocyte-Associated mRNA Profile in Various Stages of Diabetic Nephropathy. *PLoS One*, 2011; 6: e20431.
 52. MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Panagiotopoulos S, Smith TJ, McNeil KJ, Jerums G. Nonalbuminuric Renal Insufficiency in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2004; 27: 195-200.



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I (PPDS-I)
ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIBRAW–RSUD Dr.SAIFUL ANWAR**

Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang 65111

Telp/Fax.(0341) 357663. e-mail : interne_rssa@yahoo.com

LEMBAR INFORMASI SUBJEK PENELITIAN

"Nephrinuria sebagai Faktor Risiko Nefropati Diabetik

Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2"

Penelitian ini dilakukan pada subjek dengan Diabetes Mellitus tipe-2 yang berkunjung di poliklinik Endokrin-Metabolik RSUD Dr. Saiful Anwar Malang pada saat penelitian ini dikerjakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah subjek yang mengalami nephrinuria (ditemukannya nephrin pada urin) lebih rentan mengalami kerusakan ginjal akibat diabetes (nefropati diabetik) dibandingkan yang tidak mengalami nephrinuria. Sampel berupa darah dan urine akan diambil dengan cara pengambilan darah vena dan pengumpulan sampel urine.

Subjek yang telah mengerti dan setuju untuk mengikuti penelitian ini akan diminta untuk menandatangani Lembar Persetujuan Penelitian (terlampir). Subjek oleh peneliti akan diwawancarai, mendapatkan pemeriksaan fisik, serta pemeriksaan darah dan urin. Subjek tidak akan dikenakan biaya berkaitan dengan penelitian ini.

Prosedur pengambilan sample darah vena dan sampel urine ini mungkin menyebabkan rasa tidak nyaman saat disuntik dan timbulnya bekas suntikan tetapi anda tidak perlu kuatir karena rasa tidak nyaman dan bekas suntikan tersebut akan hilang dengan sendirinya. Nama dan jati diri subjek serta hasil pemeriksaan akan tetap dirahasiakan.

Seandainya subjek tidak menyetujui cara ini maka subjek tidak dapat mengikuti penelitian ini sama sekali. Dalam hal ini subjek tidak akan dikenakan sanksi apapun. Subjek dapat menghubungi peneliti bila membutuhkan informasi atau mendapatkan masalah berkaitan dengan penelitian ini kepada: dr. Nicholas Benedictus (no. HP:081380169057).

Tanggal.....

Subjek/Partisipan:

Nama:.....

Catatan:

- Lembar 1 untuk pasien
- Lembar 2 untuk arsip peneliti

Lampiran 3



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-I (PPDS-I)
ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIBRAW–RSUD Dr.SAIFUL ANWAR**

Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang 65111

Telp/Fax.(0341) 357663. e-mail : interne_rssa@yahoo.com

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
UNTUK BERPARTISIPASI DALAM PENELITIAN**

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama :
 Jenis Kelamin : (Laki-laki/Perempuan)
 Usia :
 Alamat :
 No. Telepon/HP :

Saya telah membaca lembar informasi penelitian yang berjudul: "**Nephtrinuria sebagai Faktor Risiko Nefropati Diabetik pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2**" dengan seksama dan telah mengerti penjelasan dari peneliti tentang pelaksanaan dari penelitian ini.

Saya telah mengetahui manfaat dari hasil penelitian ini dan menyatakan bersedia untuk ikut serta dalam penelitian ini. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Tanggal.....

Subjek/Partisipan:

Nama:.....

Peneliti:

Nama:.....

Catatan:

- Lembar 1 untuk pasien
- Lembar 2 untuk arsip peneliti

Lampiran 4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	N	Normal Parameters ^{a,b}		Most Extreme Differences			Kolmogorov-Smirnov Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Absolute	Positive	Negative		
Usia	34	57.0294	10.04983	.100	.100	-.096	.582	.888
Lama dm	34	71.7353	69.34425	.222	.222	-.154	1.295	.070
BMI 1	34	23.5738	1.56572	.217	.186	-.217	1.266	.081
BMI 2	34	25.6640	4.22840	.148	.148	-.091	.861	.449
Sistolik	34	122.4706	13.93543	.206	.155	-.206	1.198	.113
TDS 2	34	136.3235	18.31165	.138	.098	-.138	.807	.533
Diastolik	34	76.6471	9.47047	.256	.189	-.256	1.493	.023
TDD 2	34	85.0000	8.70388	.217	.217	-.188	1.266	.081
GD 1	34	163.4706	69.69120	.153	.141	-.153	.890	.407
GD 2	34	226.2647	96.64691	.145	.145	-.089	.847	.470
A1C	34	11.5759	3.44684	.108	.108	-.069	.628	.825
HS CRP	32	.1491	.14396	.201	.201	-.167	1.135	.152
Ureum 1	34	29.8206	9.80537	.123	.123	-.083	.715	.687
Ureum 2	34	30.8824	15.34406	.180	.180	-.136	1.052	.218
Kreatinin 1	34	.9041	.22843	.104	.104	-.081	.605	.857
Kreatinin 2	34	.8794	.28153	.177	.177	-.089	1.031	.239
ACR 1	34	59.4735	107.82910	.306	.306	-.297	1.786	.003
ACR 2	34	114.7059	248.47078	.327	.327	-.327	1.909	.001
SGOT	34	27.9118	19.70443	.280	.280	-.197	1.635	.010
SGPT	34	32.2941	35.02599	.273	.273	-.244	1.593	.012
KOL TOTAL	34	218.0294	48.27352	.134	.134	-.086	.779	.578
HDL	34	47.4118	10.01247	.122	.094	-.122	.710	.694
LDL	34	135.5294	32.84697	.096	.096	-.078	.560	.913
TG	34	170.0588	115.49943	.232	.232	-.167	1.351	.052

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

	Nephtrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lama dm	(-)	11	49.5455	56.79501	17.12434
	(+)	23	82.3478	73.36745	15.29817

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Lama dm	Equal variances assumed	.620	.437	-1.304	32	.202	-32.80237	25.15527	-84.04199	18.43724
	Equal variances not assumed			-1.429	25.072	.165	-32.80237	22.96251	-80.08764	14.48290

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Usia (-)	11	53.6364	7.81374	2.35593
(+)	23	58.6522	10.73486	2.23837

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Usia	Equal variances assumed	.512	.479	-1.380	32	.177	-5.01581	3.63469	-12.41943	2.38781
	Equal variances not assumed			-1.543	26.418	.135	-5.01581	3.24973	-11.69058	1.65896

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BMI 1 (-)	11	23.6373	1.85873	.56043
(+)	23	23.5435	1.45047	.30244

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
BMI 1	Equal variances assumed	.098	.757	.161	32	.873	.09379	.58264	-1.09300	1.28059
	Equal variances not assumed			.147	16.054	.885	.09379	.63683	-1.25586	1.44344

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BMI 2 (-)	11	25.7589	4.34576	1.31030
(+)	23	25.6186	4.26942	.89024

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
BMI 2	Equal variances assumed	.078	.782	.089	32	.930	.14027	1.57392	-3.06570	3.34624
	Equal variances not assumed			.089	19.477	.930	.14027	1.58411	-3.16983	3.45037

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Sistolik (-)	11	115.9091	16.39789	4.94415
(+)	23	125.6087	11.71533	2.44282

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Sistolik	Equal variances assumed	3.556	.068	-1.981	32	.056	-9.69960	4.89622	-19.67288	.27367
	Equal variances not assumed			-1.759	15.070	.099	-9.69960	5.51471	-21.44916	2.04995

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TDS 2 (-)	11	138.1818	17.21522	5.19058
(+)	23	135.4348	19.12358	3.98754

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TDS 2	Equal variances assumed	.061	.806	.404	32	.689	2.74704	6.79961	-11.10331	16.59738
	Equal variances not assumed			.420	21.830	.679	2.74704	6.54543	-10.83347	16.32755

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TDD 2 (-)	11	85.9091	9.70005	2.92467
(+)	23	84.5652	8.38194	1.74776

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TDD 2	Equal variances assumed	.642	.429	.416	32	.680	1.34387	3.23150	-5.23847	7.92622
	Equal variances not assumed			.394	17.408	.698	1.34387	3.40711	-5.83166	8.51941

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
GD 1 (-)	11	151.0000	84.71009	25.54105
(+)	23	169.4348	62.51896	13.03610

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GD 1	Equal variances assumed	1.279	.266	-.716	32	.479	-18.43478	25.73864	-70.86268	33.99312
	Equal variances not assumed			-.643	15.413	.530	-18.43478	28.67552	-79.41277	42.54321

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
GD 2 (-)	11	225.0909	115.59192	34.85227
(+)	23	226.8261	89.08711	18.57595

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
GD 2	Equal variances assumed	.155	.697	-.048	32	.962	-1.73518	35.97770	-75.01935	71.54899
	Equal variances not assumed			-.044	15.905	.966	-1.73518	39.49363	-85.49852	82.02817

T-Test

Group Statistics

	Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
A1C (-)		11	10.2736	3.68693	1.11165
(+)		23	12.1987	3.22316	.67208

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
A1C	Equal variances assumed	.842	.366	-1.556	32	.130	-1.92506	1.23722	-4.44519	.59507
	Equal variances not assumed			-1.482	17.579	.156	-1.92506	1.29902	-4.65889	.80878

T-Test

Group Statistics

	Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
HS CRP (-)		10	.1600	.11274	.03565
(+)		22	.1441	.15831	.03375

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
HS CRP	Equal variances assumed	.751	.393	.285	30	.777	.01591	.05574	-.09792	.12974
	Equal variances not assumed			.324	24.074	.749	.01591	.04910	-.08540	.11722

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ureum 1 (-)	11	26.8818	7.75188	2.33728
(+)	23	31.2261	10.51286	2.19208

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ureum 1	Equal variances assumed	1.333	.257	-1.217	32	.232	-4.34427	3.56857	-11.61322	2.92468
	Equal variances not assumed			-1.356	26.137	.187	-4.34427	3.20439	-10.92930	2.24076

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ureum 2 (-)	11	26.0000	6.88477	2.07583
(+)	23	33.2174	17.71993	3.69486

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ureum 2	Equal variances assumed	4.406	.044	-1.296	32	.204	-7.21739	5.56786	-18.55876	4.12398
	Equal variances not assumed			-1.703	31.234	.099	-7.21739	4.23805	-15.85833	1.42355

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kreatinin 1 (-)	11	.8664	.25943	.07822
(+)	23	.9222	.21593	.04503

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kreatinin 1	Equal variances assumed	.716	.404	-.661	32	.514	-.05581	.08447	-.22786	.11624
	Equal variances not assumed			-.618	16.882	.545	-.05581	.09025	-.24633	.13471

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kreatinin 2 (-)	11	.8364	.20627	.06219
(+)	23	.9000	.31334	.06534

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kreatinin 2	Equal variances assumed	1.041	.315	-.611	32	.546	-.06364	.10420	-.27589	.14861
	Equal variances not assumed			-.705	28.484	.486	-.06364	.09020	-.24827	.12099

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KOL TOTAL (-)	11	214.1818	29.81549	8.98971
(+)	23	219.8696	55.50209	11.57299

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KOL TOTAL	Equal variances assumed	3.078	.089	-.317	32	.753	-5.68775	17.94276	-42.23596	30.86046
	Equal variances not assumed			-.388	31.405	.701	-5.68775	14.65431	-35.55982	24.18432

T-Test

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
HDL (-)	11	45.5455	10.44379	3.14892
(+)	23	48.3043	9.91067	2.06652

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
HDL	Equal variances assumed	.656	.424	-.747	32	.461	-2.75889	3.69532	-10.28602	4.76824
	Equal variances not assumed			-.732	18.877	.473	-2.75889	3.76646	-10.64566	5.12787

T-Test

Group Statistics

	Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
LDL	(-)	11	141.0000	27.30201	8.23187
	(+)	23	132.9130	35.46049	7.39402

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
LDL	Equal variances assumed	1.692	.203	.666	32	.510	8.08696	12.14418	-16.64992	32.82383
	Equal variances not assumed			.731	25.192	.472	8.08696	11.06505	-14.69314	30.86706

T-Test

Group Statistics

	Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
TG	(-)	11	145.0000	68.64255	20.69651
	(+)	23	182.0435	131.92542	27.50835

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
TG	Equal variances assumed	1.469	.234	-.872	32	.390	-37.04348	42.49570	-123.604	49.51743
	Equal variances not assumed			-1.076	31.647	.290	-37.04348	34.42463	-107.195	33.10788

NPar Tests

Group Statistics

Nephrin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Diastolik (-)	11	74.9091	9.24613	2.78781
(+)	23	77.4783	9.66658	2.01562
ACR 1 (-)	11	26.9636	34.25961	10.32966
(+)	23	75.0217	126.98811	26.47885
ACR 2 (-)	11	39.6364	67.71008	20.41536
(+)	23	150.6087	293.86619	61.27534
SGOT (-)	11	27.7273	24.79956	7.47735
(+)	23	28.0000	17.40167	3.62850
SGPT (-)	11	32.0909	48.22542	14.54051
(+)	23	32.3913	27.98334	5.83493

Mann-Whitney Test

Ranks

Nephrin	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diastolik (-)	11	15.91	175.00
(+)	23	18.26	420.00
Total	34		
ACR 1 (-)	11	21.41	235.50
(+)	23	15.63	359.50
Total	34		
ACR 2 (-)	11	20.91	230.00
(+)	23	15.87	365.00
Total	34		
SGOT (-)	11	14.68	161.50
(+)	23	18.85	433.50
Total	34		
SGPT (-)	11	12.91	142.00
(+)	23	19.70	453.00
Total	34		

Test Statistics^b

	Diastolik	ACR 1	ACR 2	SGOT	SGPT
Mann-Whitney U	109.000	83.500	89.000	95.500	76.000
Wilcoxon W	175.000	359.500	365.000	161.500	142.000
Z	-.672	-1.856	-1.639	-1.144	-1.862
Asymp. Sig. (2-tailed)	.501	.063	.101	.253	.063
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.537 ^a	.114 ^a	.176 ^a	.258 ^a	.065 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Nephtrin

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Seks * Nephtrin Crosstabulation

Count

		Nephtrin		Total
		(-)	(+)	
Seks	Laki-laki	3	9	12
	Wanita	8	14	22
Total		11	23	34

Ranks

Nephtrin		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Seks	(-)	11	18.86	207.50
	(+)	23	16.85	387.50
Total		34		

Test Statistics^b

	Seks
Mann-Whitney U	111.500
Wilcoxon W	387.500
Z	-.667
Asymp. Sig. (2-tailed)	.505
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.586 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Nephtrin

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BMI 1	23.5738	34	1.56572	.26852
	BMI 2	25.6640	34	4.22840	.72516

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BMI 1 - BMI 2	-2.09018	3.82873	.65662	-3.42609	-.75427	-3.183	33	.003

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Sistolik	122.4706	34	13.93543	2.38991
	TDS 2	136.3235	34	18.31165	3.14042

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference				
					Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Sistolik - TDS 2	-13.85294	17.49135	2.99974	-19.95596	-7.74992	-4.618	33	.000

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Ureum 1	29.8206	34	9.80537	1.68161
	Ureum 2	30.8824	34	15.34406	2.63149

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Ureum 1 - Ureum 2	-1.06176	9.42331	1.61608	-4.34971	2.22618	-.657	33	.516

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kreatinin 1	.9041	34	.22843	.03918
	Kreatinin 2	.8794	34	.28153	.04828

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper			
Pair 1	Kreatinin 1 - Kreatinin 2	.02471	.22961	.03938	-.05541 .10482	.627	33	.535

NPar Tests

Statistics

		Diastolik	TDD 2
N	Valid	34	34
	Missing	0	0
Mean		76.6471	85.0000
Median		80.0000	82.5000
Mode		85.00	80.00
Std. Deviation		9.47047	8.70388
Minimum		50.00	70.00
Maximum		85.00	100.00

Wilcoxon Signed Ranks Test

Ranks

	N	Mean Rank	Sum of Ranks
TDD 2 - Diastolik			
Negative Ranks	5 ^a	6.00	30.00
Positive Ranks	23 ^b	16.35	376.00
Ties	6 ^c		
Total	34		

a. TDD 2 < Diastolik

b. TDD 2 > Diastolik

c. TDD 2 = Diastolik

Test Statistics^b

	TDD 2 - Diastolik
Z	-3.957 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Based on negative ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

NPar Tests**Statistics**

		ACR 2	ACR 1
N	Valid	34	34
	Missing	0	0
Mean		114.7059	59.4735
Median		22.0000	22.2000
Mode		7.00	2.00 ^a
Std. Deviation		248.47078	107.82910
Minimum		3.00	2.00
Maximum		1312.00	552.10

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Wilcoxon Signed Ranks Test**Ranks**

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
ACR 1 - ACR 2	Negative Ranks	21 ^a	17.76	373.00
	Positive Ranks	13 ^b	17.08	222.00
	Ties	0 ^c		
	Total	34		

a. ACR 1 < ACR 2

b. ACR 1 > ACR 2

c. ACR 1 = ACR 2

Test Statistics^b

	ACR 1 - ACR 2
Z	-1.291 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	.197

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

Regression

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Kenaikan ACR	55.2324	210.13707	34
Nephrin	.68	.475	34

Correlations

		Kenaikan ACR	Nephrin
Pearson Correlation	Kenaikan ACR	1.000	.142
	Nephrin	.142	1.000
Sig. (1-tailed)	Kenaikan ACR	.	.211
	Nephrin	.211	.
N	Kenaikan ACR	34	34
	Nephrin	34	34

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Nephrin ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Kenaikan ACR

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.142 ^a	.020	-.010	211.22757

a. Predictors: (Constant), Nephrin

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	29453.667	1	29453.667	.660	.423 ^a
	Residual	1427747	32	44617.085		
	Total	1457200	33			

a. Predictors: (Constant), Nephrin

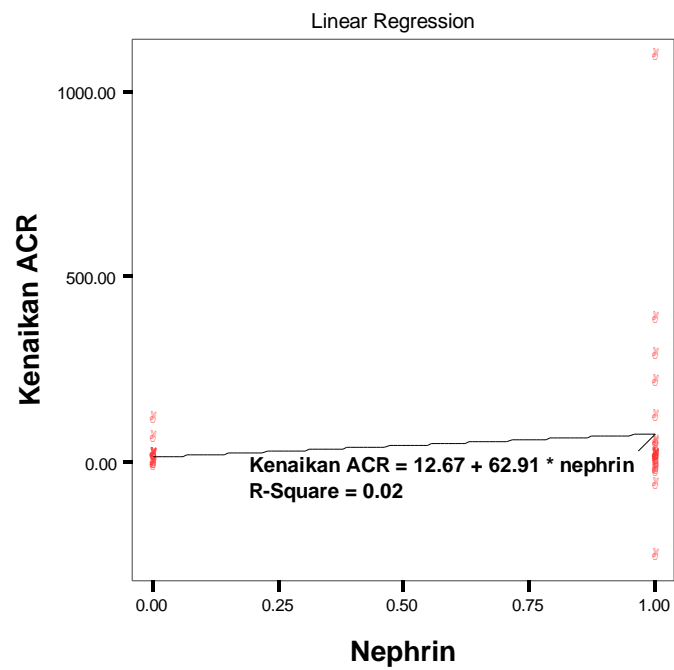
b. Dependent Variable: Kenaikan ACR

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	12.673	63.688		.199	.844
	Nephrin	62.914	77.434	.142	.812	.423

a. Dependent Variable: Kenaikan ACR

Interactive Graph



Logistic Regression

Case Processing Summary

Unweighted Cases ^a		N	Percent
Selected Cases	Included in Analysis	34	100.0
	Missing Cases	0	.0
	Total	34	100.0
Unselected Cases		0	.0
Total		34	100.0

a. If weight is in effect, see classification table for the total number of cases.

Dependent Variable Encoding

Original Value	Internal Value
-	0
+	1

Block 0: Beginning Block

Iteration History^{a,b,c}

Iteration		-2 Log likelihood	Coefficients
			Constant
Step 1		34.748	-1.176
0	2	34.575	-1.342
	3	34.575	-1.350
	4	34.575	-1.350

- a. Constant is included in the model.
 b. Initial -2 Log Likelihood: 34.575
 c. Estimation terminated at iteration number 4 because parameter estimates changed by less than .001.

Classification Table^{a,b}

Observed			Predicted		
			Kenaikan kelas ACR		Percentage Correct
			-	+	
Step 0	Kenaikan kelas	-	27	0	100.0
	ACR	+	7	0	.0
Overall Percentage					79.4

- a. Constant is included in the model.
 b. The cut value is .500

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0	Constant	-1.350	.424	10.130	1	.001	.259

Variables not in the Equation

			Score	df	Sig.
Step 0	Variables	nephrin	1.315	1	.252
	Overall Statistics		1.315	1	.252

Block 1: Method = Enter

Iteration History^{a,b,c,d}

Iteration		-2 Log likelihood	Coefficients	
			Constant	nephrin
Step 1	1	33.621	-1.636	.680
1	2	33.122	-2.165	1.125
	3	33.104	-2.295	1.254
	4	33.104	-2.303	1.261
	5	33.104	-2.303	1.261

- a. Method: Enter
b. Constant is included in the model.
c. Initial -2 Log Likelihood: 34.575
d. Estimation terminated at iteration number 5 because parameter estimates changed by less than .001.

Omnibus Tests of Model Coefficients

		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	1.470	1	.225
	Block	1.470	1	.225
	Model	1.470	1	.225

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	33.104 ^a	.042	.066

- a. Estimation terminated at iteration number 5 because parameter estimates changed by less than .001.

Hosmer and Lemeshow Test

Step	Chi-square	df	Sig.
1	.000	0	.

Contingency Table for Hosmer and Lemeshow Test

		Kenaikan kelas ACR = -		Kenaikan kelas ACR = +		Total
		Observed	Expected	Observed	Expected	
Step 1	1	10	10.000	1	1.000	11
1	2	17	17.000	6	6.000	23

Classification Table^a

Observed			Predicted		
			Kenaikan kelas ACR		Percentage Correct
			-	+	
Step 1	Kenaikan kelas ACR	-	27	0	100.0
		+	7	0	.0
Overall Percentage					79.4

a. The cut value is .500

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	nephrin	1.261	1.151	1.200	1	.273	3.529	.370	33.705
	Constant	-2.303	1.049	4.820	1	.028	.100		

a. Variable(s) entered on step 1: nephrin.

Correlation Matrix

		Constant	nephrin
Step 1	Constant	1.000	-.911
1	nephrin	-.911	1.000

Step number: 1

Observed Groups and Predicted Probabilities

	32	⇕⇕							
⇕⇕									
⇕⇕									
F		⇕⇕⇕							
R	24	⇕		+				⇕	
E		⇕		+				⇕	
Q		⇕		+				⇕	
U		⇕		-				⇕	
E	16	⇕		-				⇕	
N		⇕		-				⇕	
C		⇕	+	-				⇕	
Y		⇕	-	-				⇕	
	8	⇕	-	-				⇕	
⇕	-		-				⇕		
⇕	-		-				⇕		
⇕	-		-				⇕		

```
Predicted
↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↑ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓
↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓
Prob:      0              .25                .5               .75                 1
Group:   -----+-----
```

Predicted Probability is of Membership for +
The Cut Value is .50
Symbols: - - -
 + - +
Each Symbol Represents 2 Cases.

Block 1: Method = Backward Stepwise (Likelihood Ratio)

Classification Table^{a,b}

Observed			Predicted		
			Kenaikan kelas ACR		Percentage Correct
			-	+	
Step 0	Kenaikan kelas	-	27	0	100.0
	ACR	+	7	0	.0
	Overall Percentage				79.4

- a. Constant is included in the model.
b. The cut value is .500

Model Summary

Step	-2 Log likelihood	Cox & Snell R Square	Nagelkerke R Square
1	33.104 ^a	.042	.066

- a. Estimation terminated at iteration number 5 because parameter estimates changed by less than .001.

Tabel 2. Menguji Koefisien Regresi

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step	neph rin	1.261	1.151	1.200	1	.273	3.529	.370	33.705
1	Constant	-2.303	1.049	4.820	1	.028	.100		

- a. Variable(s) entered on step 1: nephrin.

$$f(Z) = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_i x_i)}}$$

$$Z = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_i x_i$$

dimana :

Z = Variabel terikat (*Dependent Variable*), yaitu: pemahaman

α = Konstanta

β_n = Koefisien regresi

X_n = Variabel bebas (*Independent Variable*)

Persamaan yang diperoleh dari hasil pengujian adalah sbb.

$$Y = \text{konstanta} + a_1 x_1 + a_2 x_2 + \dots + a_i x_i$$

$$Y = -2.303 + 1.261 (\text{nephrin})$$

Hasil perhitungan dari nilai odds rasionya dengan rumus:

$$\text{Probabilitas} = RO / (1 + RO)$$

	Exp(B)	95% CI. For Exp (B)		Hasil perhitungan Probabilitas		
		Lower	Upper	Exp(B)	Lower	Upper
Nephrin	3.529	0.370	33.705	77.9%	27.0%	97.1%
Konstanta	0.100			9.1%		

Case Summaries^a

				ACR 1	ACR 2	Kenaikan ACR	Kenaikan kelas ACR
Nephrin (-)	1			8.00	17.00	9.00	-
	2			22.40	3.00	-19.40	-
	3			13.60	21.00	7.40	-
	4			18.00	28.00	10.00	-
	5			29.20	85.00	55.80	+
	6			4.00	15.00	11.00	-
	7			30.00	13.00	-17.00	-
	8			22.00	7.00	-15.00	-
	9			3.00	7.00	4.00	-
	10			126.50	232.00	105.50	-
	11			19.90	8.00	-11.90	-
	Total	N		11	11	11	11
(+)	1			9.80	6.00	-3.80	-
	2			18.30	14.00	-4.30	-
	3			2.40	5.00	2.60	-
	4			40.30	7.00	-33.30	-
	5			6.00	47.00	41.00	+
	6			44.50	29.00	-15.50	-
	7			2.00	12.00	10.00	-
	8			12.00	14.00	2.00	-
	9			2.00	4.00	2.00	-
	10			48.20	53.00	4.80	-
	11			24.20	24.00	-2.00	-
	12			62.40	271.00	208.60	-
	13			18.40	23.00	4.60	-
	14			38.80	10.00	-28.80	-
	15			68.90	94.00	25.10	-
	16			38.00	415.00	377.00	+
	17			552.10	285.00	-267.10	-
	18			3.00	115.00	112.00	+
	19			9.50	55.00	45.50	+
	20			78.30	5.00	-73.30	-
	21			125.40	87.00	-38.40	-
	22			224.00	1312.00	1088.00	+
	23			297.00	577.00	280.00	+
	Total	N		23	23	23	23
Total	N			34	34	34	34

a. Limited to first 100 cases.

Tabel crosstabs

Nephrin * Kenaikan kelas ACR Crosstabulation

Count

	Kenaikan kelas ACR		Total
	+	-	
Nephrin (+)	6	17	23
(-)	1	10	11
Total	7	27	34

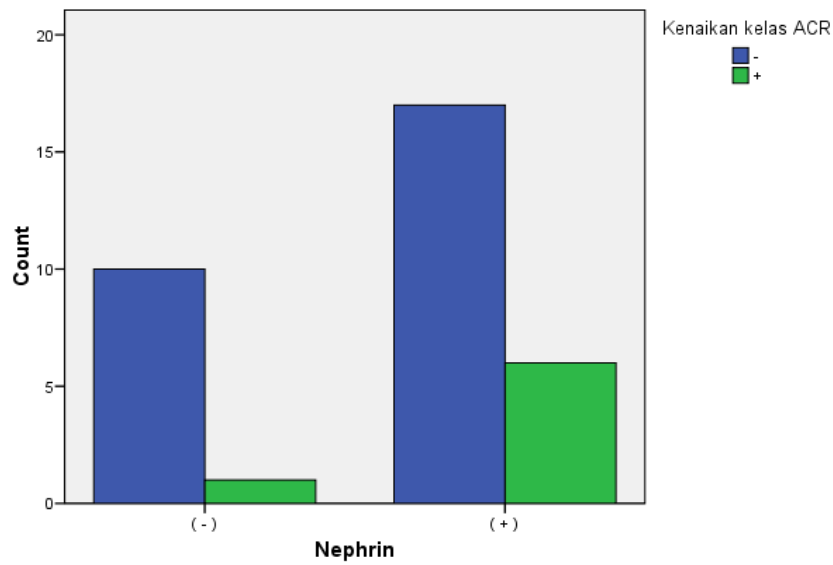
Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	.193	.252
N of Valid Cases		34	

- a. Not assuming the null hypothesis.
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Nephrin ((+) / (-))	3.529	.370	33.705
For cohort Kenaikan kelas ACR = +	2.870	.392	21.021
For cohort Kenaikan kelas ACR = -	.813	.598	1.105
N of Valid Cases	34		

Bar Chart

Hitungan sensitivitas dan spesifitas:

Sensitivitas : $a/(a+c) = 85.71 \%$

Spesifisitas : $d/(b+d) = 37.04\%$

Nilai duga positif : $a/(a+b) = 26.09\%$

Nilai duga negatif : $d/(c+d) = 90.91 \%$

Rasio kemungkinan positif : $\text{sensitifitas}/(1-\text{spesifisitas}) = 1.361$

Rasio kemungkinan negatif : $(1-\text{sensitifitas})/\text{spesifisitas} = 0.386$

Akurasi : $(a+d)/N = 47.06\%$

Odds ratio (OR) : $(ad)/(bc) = 3.529$

Rumus probability Odds rasio: $OR/(1+OR)$

Odds ratio (OR) = 3.529 (95% CI: 0.370- 33.705)
dengan probabilitas mencapai 77.9% (IK
95%: 27.0%-97.1%)